



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE



BIOPROSPECÇÃO DE PÓLEN DE *Melipona fasciculata* SMITH

BRUNO VINÍCIUS DE BARROS ABREU

São Luis- MA

2016

BRUNO VINÍCIUS DE BARROS ABREU

BIOPROSPECÇÃO DE PÓLEN DE *Melipona fasciculata* SMITH

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal – BIONORTE, da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro

SÃO LUÍS - MA

06/2016

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Abreu, Bruno Vinícius de Barros Abreu.

Bioprospecção de pólen de *Melipona fasciculata* Smith /
Bruno Vinícius de Barros Abreu Abreu. - 2016.
87 f.

Orientador(a): Maria Nilce de Sousa Ribeiro Ribeiro.
Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede -
Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia
Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2016.

1. Antimicrobiano. 2. Antioxidante. 3. Fenólicos. 4.
Palinológico. 5. Pólen. I. Ribeiro, Maria Nilce de Sousa
Ribeiro. II. Título.

BRUNO VINÍCIUS DE BARROS ABREU

BIOPROSPECÇÃO DE PÓLEN DE *Melipona fasciculata* SMITH

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal – BIONORTE, da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Data da Defesa: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro
Orientadora – Presidente da banca

Profa. Dra. Luce Maria Brandão Torres
2º Examinador

Prof. Dr. Richard Pereira Dutra
3º Examinador

Profa. Dra. Silvana Amado Libério
4º Examinador

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro
5º Examinador

SÃO LUÍS - MA

06/2016

A Deus, por Sua misericórdia, Proteção e Amor em todos os momentos da minha vida.
À minha família pelo suporte, incentivo e carinho.

Aos meus grandes e verdadeiros amigos pelo carinho e presença em momentos difíceis de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por iluminar minha vida em todos os momentos, por Sua misericórdia e Amor sem comparação.

À Dona Maria do Socorro de Barros Abreu e Luiz Cândido Gomes de Abreu Neto, meus maiores tesouros que Deus me deu. Obrigado!

À minha família, por estar sempre presente em minha vida, me apoiando, acreditando em minha pessoa e em minha capacidade!

À minha esposa, Luana Abreu e suas filhas, Juliana e Maria Júlia Palácio, pelos momentos sempre juntos!

À Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro pela sua sabedoria, gentileza e exemplo de grande pesquisadora e dedicação. Realmente um exemplo de pessoa e ser humano, uma amiga e muito mais, uma pessoa a qual aprendi a amar e respeitar. Professora, verdadeiramente, **MUITO OBRIGADO!!!**

À Profa. Dra. Silvana Amado Liberio pela atenção e incentivos nos momentos oportunos, obrigado!

Ao Laboratório de Microbiologia do DEFAR da UFMA pela colaboração com as análises microbiológicas, em especial Emmeline, Nadine e a Profa. Patrícia Figueiredo.

À todos aqueles do Laboratório de Farmacognosia I, em especial a Richard Pereira Dutra, meu companheiro e irmão, Marisa Cristina Aranha Batista, minha irmã e braço direito, José Wilson, Ludmilla, Mayara Soares e Vanessa Conceição.

Aos funcionários do prédio de Farmácia da Universidade Federal do Maranhão, em especial Dona Marta, Sumaya.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de auxílio durante os dois primeiros anos de doutorado e pelo auxílio financeiro para desenvolvimento da tese.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Maranhão (FAPEMA) pelo auxílio financeiro.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA) pelos auxílios financeiros para desenvolvimento da tese.

Ao Prof. Dr. Giorgio Cristino Venturieri, pela doação das amostras de pólen.

Aos meliponicultores, pela doação das amostras de pólen, em especial aos dos municípios de Palmeirândia e Fernando Falcão no estado do Maranhão, de São Francisco do Pará e Ilha das Onças no estado do Pará.

Aos meus amigos Wilson, Luciene, Lúcia, Vó Celeste, Bruno Araújo, Guilherme Nunes, Seu Gilson que estão sempre presentes em minha vida, nos momentos tristes e felizes e que me incentivam com o seu carinho e amizades marcantes ao longo de todos esses anos e sempre unidos.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

"Mil cairão ao teu lado, e dez mil,
á tua direita, mas tu não serás atingido."
Salmos 91, 7

RESUMO

Os meliponíneos, abelhas sem ferrão, sociais, encontradas em regiões tropicais e subtropicais da América do Sul e Central, África, Sudeste da Ásia e Austrália. No Brasil estão em todo o país, destacando-se as regiões Norte e Nordeste *Melipona fasciculata* Smith (Apidae, Meliponini), popularmente conhecida por tíuba, cultivada por populações indígenas e rurais para a produção de mel, geoprópolis e por acumular pólen. Este é produzido a partir do pólen floral, misturado com néctar e secreções salivares da abelha e usado popularmente como alimento nutricional e para tratar doenças antifúngicas, colites, reações alérgicas. O trabalho objetivou avaliar a composição química, atividade antioxidante, antimicrobiana e palinológica dos extratos hidroalcoólicos do pólen coletado pela abelha *Melipona fasciculata* Smith. As amostras de pólen (09) foram coletadas em meliponários nos estados do Pará e Maranhão, Brasil, as quais foram separadamente maceradas com álcool etílico 70% por 48 horas, obtendo as soluções extrativas, as quais foram filtradas e concentradas em evaporador rotativo, obtendo-se os extratos hidroalcoólicos de pólen (EHP). Nos extratos foram avaliados atividade antioxidante *in vitro* pelos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e FRAP (redução de ferro), quantificação dos teores de flavonoides totais (cloreto de alumínio) e polifenóis totais (reagente Folin–Ciocalteu) medidos por espectrofotometria de UV-Vis e avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* pelo método de difusão em agar. Os pólenes foram extraídos e submetidos à acetólise para os estudos palinológicos. Os componentes químicos dos extratos foram identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) e cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massas (LC/EM/EM). Os EHP apresentaram valores de CE_{50} entre 70,73 -398,74 $\mu\text{g/mL}$ e de $0,09 \pm 0,06\%$ - $1,26 \pm 0,13 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{g}$ extrato, os teores de polifenólicos totais variaram entre $5,4 \pm 0,01$ - $14,66 \pm 0,04$ e de $0,59 \pm 0,003$ - $1,10 \pm 0,01$ para os teores de flavonoides totais. Os constituintes químicos dos extratos de pólen identificados por CG/EM evidenciaram a predominância de ácidos graxos, aminoácidos, ácidos fenólicos e açúcares como as classes de compostos químicos presentes nos extratos analisados. Já a análise dos extratos por LC/EM/EM, foi possível a identificação dos flavonoides canferol, isohamenetina, afzelina, quercetrina, cirsioliol, derivados de cirsioliol, tilirosídeo, ácido glucônico, glucitol, quercetrina, isohamenetina-3-O-rutinosídeo, hydroxyssaffor yellow, além do ácido glucônico e glucitol. O EHP 09 (pólen coletado no estado do Pará) foi o mais ativo contra *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*. Os teores de compostos fenólicos e flavonoides, atividade antioxidante e antimicrobiana variam de acordo com os tipos polínicos verificados na

avaliação palinológica. Os dados contribuem com parâmetros químicos e biológicos de fixação de identidade e qualidade do pólen acumulado por *Melipona fasciculata* cultivada nos municípios Palmeirândia, Fernando Falcão no estado do Maranhão e Pará como subsídios para futura legislação de produtos de abelhas sem ferrão, assim contribuem ainda para agregar valores aos produtos meliponícolas.

Palavras chaves: I pólen. II antimicrobiano. III antioxidante. IV. Compostos fenólicos. V. Palinológico

ABSTRACT

The stingless bees, stingless bees, social, found in tropical and subtropical regions of South and Central America, Africa, Southeast Asia and Australia. In Brazil they are all over the country, especially the North and Northeast *Melipona fasciculata* Smith (Apidae, Meliponini), popularly known as tiúba, cultivated by indigenous and rural populations for the production of honey, geopropolis and accumulate pollen. This is produced from the natural flower pollen, mixed with nectar and salivary secretions of the bee and popularly used as a nutritional feed and antifungal to treat diseases, colitis, allergic reactions. The study aimed to evaluate the chemical composition, antioxidant, antimicrobial and pollen of hydroalcoholic extracts of pollen collected by *Melipona fasciculata* Smith bee. The pollen samples (09) were collected in meliponários in the states of Pará and Maranhão, Brazil, which were separately macerated with 70% ethyl alcohol for 48 hours obtaining extractive solutions, which were filtered and concentrated in a rotary evaporator, obtaining If the pollen hydroalcoholic extracts (EHP). The extracts were evaluated in vitro antioxidant activity by methods DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhidrazila) and FRAP (reduced iron), quantification of the total flavonoid content (aluminum chloride) and total polyphenols (Folin-Ciocalteu reagent) measured by UV-Vis and evaluation of the in vitro antimicrobial activity by agar diffusion method. Pollens were extracted and subjected to acetolysis for palynological studies. The chemical components of the extract were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC / MS) and liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC / MS / MS). The EHP showed EC50 values between 70.73 -398.74 mg / ml and $0.09 \pm 0.06\%$ - 1.26 ± 0.13 mmol Fe $2+ / g$ extract, total polyphenolic content varied between $5, 4 \pm 0.01$ - 14.66 ± 0.04 and 0.59 ± 0.003 - 1.10 ± 0.01 for the total flavonoid content. The chemical constituents of pollen extracts identified by GC / MS showed the predominant fatty acids, amino acids, phenolic acids and sugars such as classes of chemical compounds present in the extracts analyzed. The analysis of extracts by LC / MS / MS, it was possible to identify the flavonoids kaempferol, isohamenetina, afzelin, quercetrin, cirsiolol, derivatives cirsiolol, tilirosídeo, gluconic acid, glucitol, quercetrin, isohamenetina-3-O-rutinoside, hydroxyssaffor yellow, besides gluconic acid and glucitol. The EHP 09 (pollen collected in the state of Pará) was the most active against *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Streptococcus mutans*. The content of flavonoids and phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activity vary according to the types of pollen grains observed in pollen evaluation. The data contribute to chemical and biological parameters of identity fixing and quality of accumulated pollen by *Melipona fasciculata* grown in municípos Palmeirândia, Fernando Falcao in the state of Maranhão and

Pará as subsidies for future legislation stingless bee products, and also contribute to aggregate values to meliponícolas products.

Key words: I pollen. Antimicrobial II. III antioxidant. IV. Phenolic compounds. V. palynological

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Pólen de <i>Melipona fasciculata</i> Smith	23
Figura 2. Pote com pólen de <i>Melipona fasciculata</i> estocado	24
Figura 3. CLAE/UV cromatogramas dos extratos hidroalcoólicos de pólen.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores dos rendimentos extrativos, teores de polifenóis e flavonoides totais, atividade antioxidante (métodos DPPH, FRAP) dos extratos de pólen de <i>Melipona fasciculata</i> Smith.....	37
Tabela 2. Composição química dos extratos de pólen de <i>Melipona fasciculata</i> Smith de diferentes regiões do estado do Maranhão e Pará.....	38
Tabela 3. Tentativa de identificação de substâncias químicas em pólen de <i>Melipona fasciculata</i> Smith por CLAE-DAD-EM-EM.....	40
Tabela 4. Atividade <i>in vitro</i> dos extratos de pólen contra <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Candida glabrata</i>	41
Tabela 5. Ocorrência e frequência dos tipos polínicos mais encontrados no pólen de <i>Melipona fasciculata</i> nos municípios de Palmeirândia e Fernando Falcão, no estado do Maranhão e de amostras do estado do Pará.....	42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Abelhas sem ferrão.....	12
2.2 Produtos de abelhas sem ferrão.....	15
2.2.1 Mel.....	15
2.2.2 Própolis e geoprópolis.....	19
2.2.3 Pólen.....	21
3. OBJETIVOS	27
3.1 Objetivo geral	27
3.4 Objetivos específicos	27
4. JUSTIFICATIVA	27
5. MATERIAIS E MÉTODOS	29
5.1 Coleta das amostras de pólen	29
5.2 Caracterização da área de estudo.....	29
5.3 Obtenção dos extratos hidroalcoólicos de pólen.....	30
5.4 Determinações da concentração de polifenólicos totais nos extratos hidroalcoólicos de pólen.....	30
5.5 Determinações da concentração de flavonoides totais nos extratos hidroalcoólicos de pólen.....	30
5.6 Avaliação dos perfis cromatográficos dos extratos hidroalcoólicos de pólen.....	31
5.7 Análise dos extratos de pólen por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas (CLAE/DAD/EM/EM).....	31
5.8 Análises dos extrato de pólen por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM).....	32
5.9 Determinações das atividades antioxidantes nos extratos hidroalcoólicos de pólen.....	32
5.9.1 Ensaio de sequestro de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH*).....	32
5.9.2 Ensaio da capacidade redutora de ferro (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power)	33
5.10 Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos de pólen de <i>Melipona fasciculata</i> Smith.....	34
5.11. Análise palinológica das amostras de pólen de <i>Melipona fasciculata</i> Smith.....	35
5.11.1. Preparação laboratorial das amostras de Pólen.....	35
5.11.2. Análise palinológica das amostras de Pólen.....	35
5.12 Análise estatística	35
6. RESULTADOS	36
7. DISCUSSÃO	44
8. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51
ANEXO	81

1. INTRODUÇÃO

As abelhas sem ferrão, meliponíneos, são abelhas sociais, que constituem um grupo ecologicamente importante, pois atuam na manutenção da diversidade das plantas como efetivos polinizadores e ocupam grande parte das regiões de clima tropical do planeta, algumas regiões de clima temperado e subtropical (KERR, 1987, NOGUEIRA NETO, 1997). São responsáveis pela polinização de árvores (KERR et al., 1996) e importantes em função da elaboração e utilização de seus produtos como mel, cera, própolis, geoprópolis e pólen, que são importantes para sua defesa, alimentação e sobrevivência (NOGUEIRA-NETO, 1997).

A criação de abelhas sem ferrão, a meliponicultura, é uma atividade em franca expansão no Brasil, mas ainda carece de informações técnico-científica, diferentemente, da apicultura, especialmente *Apis mellifera* que dispõe de muitos dados científicos.

No estado do Maranhão destaca-se *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith (Hymenoptera, superfamília Apoidea, família Apidae, subfamília Meliponinae, tribo Meliponini) conhecida popularmente como tiúba ou tiúba do Maranhão, criada especialmente na região da Baixada e no Cerrado do Estado, não só por ser a abelha social mais comum, mas também por ser uma das principais fontes de renda para várias famílias indígenas e rurais que a cultivam para produção de mel, cera, geoprópolis e acúmulo de pólen (VILLAS-BOAS; MALASPINA, 2005; ALBUQUERQUE et al., 2013).

A espécie possui grande valor de mercado pela peculiaridade dos produtos oferecidos, fácil manejo e necessita de pouco investimento para a sua criação, além de ser uma eficiente polinizadora, podendo aumentar a produção agrícola e promover a regeneração da vegetação natural (ALBUQUERQUE et al., 2013).

A meliponicultura é uma atividade valiosa do ponto de vista social, ambiental e econômica, no entanto a produção de pólen de abelhas sem ferrão, especialmente de *Melipona fasciculata* nos estados do Maranhão e Pará é reduzida, talvez devido, principalmente, ao desconhecimento por parte dos meliponicultores e dos consumidores, da importância desse produto. A falta de legislação brasileira para os produtos meliponícolas, dificulta a sua caracterização, a fim de contribuir para elaboração de normas que permitam a valorização desse produto.

As exigências dos mercados interno e externo quanto à qualidade e segurança dos produtos de abelhas comercializados, fazem-se necessário o desenvolvimento de estudos que

visem estabelecer os perfis químicos, farmacológicos e toxicológicos do pólen, para o desenvolvimento de produtos para aplicação terapêutica.

Pólen de abelhas sem ferrão consiste em pólen botânico coletado de diversas espécies de plantas por abelhas operárias combinado com néctar e secreções salivares e é a principal fonte protéica para as larvas (NOGUEIRA-NETO, 1997). Poucos são os estudos sobre a composição química de pólen de abelhas sem ferrão, predominando estudos com pólen proveniente de *Apis mellifera*, abelha com ferrão, conhecido como pólen apícola.

Face a escassez de estudos acerca da composição química e biológica do pólen de abelhas sem ferrão e considerando que *Melipona fasciculata* Smith é frequentemente cultivada no estado do Maranhão e que os meliponicultores não agregam valores econômicos, sociais e biológicos ao pólen, neste trabalho objetivamos validar produtos obtidos do pólen, identificação da composição química, palinológica e propriedade antimicrobiana do pólen de *Melipona fasciculata* Smith.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Abelhas sem ferrão

As abelhas sem ferrão pertencem ao reino Animalia, Filo Arthropoda, Classe Insecta, Ordem Hymenoptera, Subordem Aprocrita, Superfamília Apoidea, Família Apidae, Subfamília Meliponinae, Tribo Meliponini (PIANARO, 2007). São popularmente conhecidas como meliponíneos, abelhas sem ferrão, possuem seu acúleo (ferrão) atrofiado e tem hábitos sociais mais avançados (NOGUEIRA-NETO, 1997; KERR, 1987).

Os meliponíneos são abelhas pantropicais e eusociais (vivem em colônias permanentes com divisões de castas), constituindo um grupo ecologicamente importante para os ecossistemas tropicais e comunidades humanas dessas regiões, atuam na manutenção da diversidade das plantas como polinizadores (KERR, CARVALHO, NASCIMENTO, 1996; SILVEIRA, et al., 2002). São responsáveis por 40 a 60% da polinização de áreas nativas e ocupam grande parte das regiões de clima tropical do planeta e, também, algumas importantes regiões de clima temperado subtropical, mas, vêm sendo dizimados há muitos anos, através da destruição da flora nativa, redução de substrato de nidificação, coleta predatória de ninhos e

introdução de espécies exóticas (KERR, 1987, NOGUEIRA-NETO, 1997; SILVEIRA et al., 2002; VELTHUIS et al., 2003; FRAZÃO & SILVEIRA, 2004).

Segundo atualização do catálogo de abelhas Moure's (CAMARGO & PEDRO, 2007; 2013) são descritas 417 espécies de abelhas sem ferrão em áreas tropicais que exibem grande diversidade de comportamento e forma de vida. De acordo com Pedro (2014), um total de 244 espécies de abelhas sem ferrão são encontradas no Brasil e distribuídas em 29 gêneros, destas 87 são endêmicas no país correspondendo a cerca de 20% de abelhas sem ferrão neotropicais (CAMARGO, 2013).

As abelhas sem ferrão produzem mel, própolis, geoprópolis, cera e acumulam o pólen, produtos importantes para sua alimentação, defesa e sobrevivência (BANKOVA, 2005; KERR, 1996).

Os produtos elaborados pelas abelhas sem ferrão historicamente são valorizados pelos seres humanos (SCHWARZ, 1948; SANTOS & ANTONINI, 2008) e vêm sendo estudado do ponto de vista etnobiológico em função de sua importância na alimentação, medicina tradicional, na produção de artesanato e atividades ligadas a ritos religiosos em diferentes comunidades: Uwa da Colômbia (FALCHETTI et al., 2002), Kayapó (POSEY, 1983; 1984), Pankarare (COSTA NETO, 1998), Enanene-Nawe (SANTOS & ANTONINI, 2008), Mby'a no Brasil (RODRIGUES, 2006), Mby'a e Ava Guarani no Paraguai (ZAMUDIO et al., 2010), grupos multiculturais entre Brasil e Argentina (ZAMUDIO, HILGERT, 2012).

Como ocorre com as abelhas africanizadas da subfamília Apinae, especialmente *Apis mellifera*, também são criadas racionalmente em muitas partes do mundo, comercialmente em agrupamentos de colônias, denominados meliponários, constituindo a meliponicultura.

Em todo o Brasil, tem crescido o interesse pelas abelhas nativas, tanto por parte dos criadores conservacionistas como também por criadores tradicionais que vislumbra na meliponicultura uma forma de geração de renda (VENTURIERI, 2008). Assim, o interesse pela meliponicultura, vem sendo considerada como uma alternativa sustentável para famílias rurais brasileiras, especialmente no Norte e Nordeste brasileiro, contribuindo para preservação de espécies vegetais garantindo ao meliponicultor a oportunidade de obtenção dos produtos meliponícolas, tais como mel, própolis, geoprópolis, cera e pólen (BROSI, 2009).

No Brasil 2 gêneros são muito conhecidos, *Friesella* e *Trigona* (CAMARGO & PEDRO, 2007a). Na região Amazônica há uma grande diversidade e abundância de abelhas sem ferrão, com predominância de espécies do gênero *Melipona* (SILVEIRA et al., 2002; VENTURIERI, 2008). O estado do Maranhão possui uma variedade de ecossistemas que abrigam uma notável e diversificada fauna de abelhas, com elementos típicos da Amazônia, assim como de áreas mais abertas, haja vista sua localização peculiar entre o Norte, Nordeste e Centro-Oeste brasileiro (REGO et al., 2007), destacando *Melipona seminigra* Friese 1903 (uruçu-boca de renda), *Melipona scutellaris* Latreille 1811 (uruçu verdadeira), *Melipona (Melikerria) fasciculata* 1854 (tiúba), *Melipona subnitida* Ducke 1910 (jandaíra), *Melipona rufiventris* Lepeletier 1836 (uruçu-amarela), *Melipona fuliginosa* Lepeletier 1836 (uruçu-boi), dentre outras.

Essas abelhas são importantes para os ecossistemas tropicais e para as comunidades humanas dessas regiões, como valioso recurso sócio-econômico. Contribuem diretamente na polinização de 40 a 90% de árvores nativas (KERR et al., 2001; PIANARO, 2007), na polinização de plantas cultivadas como “cupuaçu”, “camu-camu”, “morango”, “tomate”, “abacate”, “pepino”, dentre outras, aumentando o rendimento das culturas e a qualidade dos frutos (ROUBIK, 1995; SLAA, et al., 2006).

No Brasil, especialmente na região Norte e Nordeste, a Meliponicultura vem sendo desenvolvido há bastante tempo, por populações indígenas, rurais com pequenos e médios produtores (KERR, 1987; NOGUEIRA-NETO, 1997; PEREIRA et al., 2007). Para fins comerciais, a criação dessas abelhas apresenta aspectos de atrativos sustentáveis, já que tem custos baixos com manejo. Algumas espécies já são utilizadas para a produção de mel em algumas regiões do país, desperdiçando outros produtos que poderiam ser aproveitados como pólen, cera, própolis e geoprópolis, que também são usados pelas comunidades na medicina popular caseira (SILVA; PAZ, 2012).

No estado do Maranhão destaca-se *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith (Hymenoptera, superfamília Apoidea, família Apidae, subfamília Meliponinae, tribo Meliponini) conhecida popularmente como tiúba ou tiúba do Maranhão, criada especialmente na região da Baixada e no Cerrado do Estado, não só por ser a abelha social mais comum, mas também por ser uma das principais fontes de renda para várias famílias indígenas e rurais que a cultivam para produção de mel, cera, geoprópolis e acúmulo de pólen (VILLAS-BOAS; MALASPINA, 2005; ALBUQUERQUE et al., 2013). A espécie possui grande valor de mercado pela peculiaridade dos produtos oferecidos, fácil manejo e necessita de pouco

investimento para a sua criação, além de ser uma eficiente polinizadora, podendo aumentar a produção agrícola e promover a regeneração da vegetação natural (ALBUQUERQUE et al., 2013).

A criação de abelhas sem ferrão no estado do Maranhão reúne algumas características bastante favoráveis. Por ser uma região de transição, possui um grande número de ecossistemas, desde ambientes salinos com presença de manguezais, passando por campos inundáveis, cerrados e babaçuais, até vegetação florestal de grande porte com características amazônicas. Além disso, a matéria prima que serve de suporte para o trabalho das abelhas, origina-se na abundante biodiversidade regional (MUNIZ, 2004; RÊGO; ALBUQUERQUE, 2010). Além disso, a ação polinizadora dessas abelhas, pode ainda aumentar a produção agrícola e promover a regeneração da vegetação natural (ALBUQUERQUE et al., 2013).

Dentre as abelhas sem ferrão *Melipona fasciculata* é bem cultivada no estado do Maranhão para produção de mel de excelente qualidade e em boa quantidade, armazenando seus méis em potes constituídos quase exclusivamente de cera.

Freire et al., (2012) já demonstrou a viabilidade da Meliponicultura no estado do Bahia, onde sugeriu que 250 colônias de *Melipona fasciculata* (tiúba), gerariam cerca de R\$ 115.000,00 de receita bruta anual; esse pensamento otimista deve ser expandido para toda a Amazônia brasileira, especialmente no estado do Maranhão onde existem comunidades com áreas extrativistas, de proteção ambiental, unidades de conservação e outras. Dessa forma tal atividade se faz importante no Estado, por sua posição geográfica, possuir grande número de ecossistemas, explorar o potencial nativo da flora, gerando trabalho e renda ao homem do campo, fazendo parte dos arranjos produtivos do estado (BEZERRA, 2002).

2.2. Produtos de abelhas sem ferrão

2.2.1. Mel

Entende-se por mel o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia. Serve como alimento para as abelhas na estação de inverno e é o produto das abelhas mais consumido pelos humanos (COSTA; OLIVEIRA, 2005; XIMENES; COSTA; NASCIMENTO, 2011).

Sua classificação se dá quanto a sua origem, em mel floral ou mel de melato. O mel floral é obtido dos néctares das flores, enquanto que o mel de melato é obtido principalmente a partir de secreções das partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que se encontram sobre elas (BRASIL, 2000).

O mel floral ainda pode ser classificado em unifloral ou monofloral, quando o néctar coletado origina-se de flores de uma mesma família, gênero ou espécie, ou multifloral e polifloral, quando o néctar coletado é decorrente de diferentes origens florais (BRASIL, 2000; LÉON-RUIZ, 2011; VIEIRA, 2012). De modo geral, méis monoflorais são mais raros, mais difíceis de produzir e apresentam aromas característicos, indicando a origem do néctar e,consequentemente,são mais valorizados comercialmente (LÉON-RUIZ, 2011; VANHANEN; EMMERTZ; SAVAGE, 2011). No Brasil, os principais méis uniflorais de meliponíneos registrados foram de *Acacia polyphyla*, *Anadenanthera macrocarpa*, *Citrus*, *Eucalyptus*, *Mimosa caesalpinifolia*, *Myrcia*, *Piptadenia rígida*, *Schinus*, *Solanum* e *Vernonia polyanthes* (BAZLEN, 2000; ALMEIDA, 2007; BARTH, 2004; ALVES; CARVALHO; SOUZA, 2006).

O mel produzido pela abelha *Apis mellifera* é o mais comum, sendo amplamente estudado e usado pela população. No entanto, particularmente na região Neotropical, além das abelhas africanizadas, espécies de abelhas indígenas sem ferrão ou meliponíneos, como *Melipona* spp., *Scaptotrigona* spp. e *Trigona* spp., elaboram méis diferenciados, com características sensoriais, físicas e químicas particulares e que possuem um valor comercial mais elevado, quando comparados ao mel da abelha *A. mellifera* (GUERRINI et al., 2009; ALMEIDA-MURADIAN; MATSUDA; BASTOS, 2007; GAREDEW; SCHMOLZ; LAMPRECHT, 2004; TORRES et al., 2004).

O mel produzido pelas abelhas sem ferrão é um produto muito valioso, com uma longa tradição de consumo, ao qual são atribuídos vários usos medicinais. Devido ao pouco conhecimento sobre este produto, ele não é incluído nas normas internacionais para mel e não é controlado pelas autoridades de controle de alimentos (CODEX, 2001).

Padrões de qualidade e identidade de mel no Brasil foram criados somente para mel de *Apis mellifera* (BRASIL, 2001), porém as abelhas sem ferrão também produzem mel, destacando as espécies dos gêneros *Tetragonisca*, *Melipona*, *Scaptotrigona*, *Plebeia* (na América), *Meliponula* (na África), *Tetragonula* (na Ásia).

Comparado ao mel de *Apis mellifera*, a diferença mais relevante com o mel de abelhas sem ferrão, são os maiores valores água, acidez livre, condutividade elétrica, maltose e nitrogênio e menores valores de diastase em mel de espécies de *Melipona* (VIT et al., 1998).

A composição química do mel é constituída basicamente de açúcares simples, facilmente absorvidos, o mel contém inúmeras substâncias benéficas ao equilíbrio dos processos biológicos do nosso organismo (CAMARGO et al., 2006), tais como ácidos orgânicos, aminoácidos, enzimas, sais minerais, vitaminas (BODGANOV et al., 2008). No entanto, composição e qualidade dependem de fatores como origem floral e geográfica, condições climáticas, processamento, armazenamento e espécie produtora (BERETTA et al., 2005; BERTONCELJ et al., 2007; FERREIRA et al., 2009; SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2010).

Dentre as diversas classes de substâncias bioativas de ocorrência do mel, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por prevenir diversas doenças. No mel, além da importante função à saúde humana, o conteúdo de fenólicos totais também se destaca como uma importante ferramenta na determinação da origem floral do mel (ANDRADE et al., 1997; IURLINA et al., 2009; BERTONCELJ et al., 2011).

São poucos os trabalhos publicados com relação aos constituintes bioativos e as propriedades medicinais dos méis de abelhas sem ferrão e muitas de suas atribuições carecem de comprovação científica (MACEDO, 2007), tornando-se necessários estudos de atividades biológicas para determinação das reais potencialidades terapêuticas deste tipo de mel, destaca-se a atividade antibacteriana (MIORIN et al., 2003; GONÇALVES et al., 2005).

No entanto, estudos científicos têm confirmado a presença de compostos bioativos e a capacidade antioxidante desse tipo mel, conduzindo, dessa forma, a uma valorização do produto, além disso, no tratamento de processos inflamatório e infecciosos (CORTOPASSI-LAURINO; GELLI, 1991), propriedades antimicrobianas (BOORN et al., 2010; IRISH et al., 2008; GONÇALVES et al., 2005; TORRES et al., 2004; MIORIN et al., 2003), propriedades antibacterianas (GAREDEW, SCHMOLZ E LAMPRECHT, 2004; GUERRINI et al., 2009; BOORN et al., 2010).

Muitas dessas propriedades devem estar relacionadas às plantas visitadas por essas abelhas, que por meio de uma análise polínica do mel de meliponíneos, constatou-se a preferência por algumas espécies de plantas como *Borreria latifolia*, *Borreria verticillata*,

Centella, *Eucalyptus*, *Mimosa bimucronata*, *Mimosa taimbensis*, *Myrcia* e *Piptadenia* (CORTOPASSI-LAURINO E GELI, 1991).

Roubik et al. (2013) avaliou amostras do mel elaborado por *T. angustula* provenientes da Bolívia e do Peru. A partir da análise melissopalínológica, foram identificados de 15 a 52 tipos polínicos presentes nas amostras por colônia de abelha, sendo que os gêneros botânicos *Anacardium*, *Celtis*, *Machaerium* e *Spondias* foram comuns entre os méis avaliados.

Guerrini et al. (2009), ao estudarem amostras de mel de abelhas sem ferrão (*Meliponinae*) da região Amazônica do Equador, identificaram a presença de tipos polínicos pertencentes às famílias *Aquifoliaceae* (*Ilex* spp.), *Burseraceae* (*Protium* spp.), *Combretaceae*, *Asteraceae*, *Cruciferae*, *Fabaceae* (*Acacia* spp.), *Malvaceae*, *Moraceae*, *Myrtaceae*, *Polygonaceae*, *Proteaceae*, *Rhamnaceae*, *Scrophulariaceae* e *Vitaceae* (*Parthenocissus* spp.).

O espectro polínico do mel de *Melipona fasciculata* Smith, 1854 foi analisado por Martins et al. (2011). A identificação das plantas visitadas por essa espécie foi realizada em 12 amostras de mel coletadas, mensalmente, em uma colônia localizada no município de Palmeirândia, na área da Baixada Ocidental Maranhense, Brasil. Foram encontrados 45 tipos polínicos, sendo *Pontederia parviflora* Alexander (*Pontederiaceae*), espécie mais frequente em todo o período de amostragem (38,6%), sendo determinada como pólen dominante nos meses de outubro (86%), junho (85%), julho (76%), agosto (49%) e setembro (51%) e como pólen acessório em dezembro, janeiro e março. *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (*Fabaceae*) foi a segunda espécie mais frequente (22,8%) sendo considerada como pólen dominante nos meses de novembro (46%), abril (74%) e maio (72%). A espécie *Myrcia eximia* DC. (*Myrtaceae*) foi classificada como pólen isolado importante. As famílias mais representativas no espectro polínico das amostras de mel foram *Pontederiaceae* e *Fabaceae*.

O mel de *Apis*, no entanto, apresenta diferentes propriedades terapêuticas, dentre elas destaca-se cicatrizante e antimicrobiana (COOPER et al., 1999; SATO et al., 2000). De maneira geral, atribuem ao mel inúmeros efeitos benéficos em várias condições patológicas como: propriedades antissépticas, fazendo com que ele seja utilizado como coadjuvante na área terapêutica em diversos tratamentos profiláticos (STONOGA & FREITAS, 1991), propriedade antiacteriana, demonstrando um amplo espectro de ação capaz de inibir bactérias gram positivas e negativas (MOLAN et al., 1992), fungicida (EFEM et al., 1992), cicatrizante

(EFEM et al., 1992; GUPTA et al., 1993), promotora da epitelização das extremidades de feridas (EFEM et al., 1992), antiinflamatória (MOLAN et al., 2005; TONKS, 2007).

2.2.2. Própolis e geoprópolis

Dentre os produtos de abelhas sem ferrão, a própolis e a geoprópolis tem se destacado, pois são utilizadas pelas abelhas, especialmente para proteção (MARCUCCI, 1996, BEZERRA, et al., 2015).

A geoprópolis é resultado da mistura de material resinoso de plantas, cera, secreções salivares e terra ou barro, o qual é utilizado pelas abelhas para protegê-las contra insetos e microorganismos empregando-a no reparo de frestas ou danos à colméia (isolamento térmico e contra inimigos), recobrando a parede da colméia, reforçando os favos, no preparo de locais assépticos para a postura da abelha rainha e na mumificação de insetos invasores. A própolis, por sua vez, não é adicionado a terra ou barro (KERR, 1987; MARCUCCI, 1995).

As pesquisas com própolis têm se concentrado nas abelhas com ferrão e africanizadas, especialmente *Apis mellifera*, possuindo atividades: antimicrobiana (SILVA et al., 2006; SAEKI et al., 2011; BANKOVA et al., 2014); antioxidante, antiinflamatória, antiulcerogênica (REIS et al, 2000; BORRELLI et al, 2002; RIGH et al., 2011); imunomoduladora, hipotensiva, cicatrizante, anestésica, antitumoral, hipoglicemiante e antialérgica (ORSOLIC & BASIC, 2005; SFORCIN et al., 2011; SHRUTHI & SUMA, 2012) efeito coccidiostático (MOURA et al., 1998), leishmanicida (AYRES et al., 2007; MACHADO et al., 2007; SILVA et al., 2015) e propriedade anti-helmíntica (PRINCIPAL et al., 2002; ARAÚJO et al., 2006; CASTAGNARA et al., 2007; LOUREIRO et al., 2007; KRYCHAK-FURTADO, 2011; HEINZEN et al., 2012).

No entanto, alguns trabalhos tem relatado bons resultados quanto às propriedades terapêuticas da própolis de abelhas sem ferrão como antibacteriana (DUALIBE et al., 2007; TRINDADE et al., 2008; FARNESE et al., 2009), antifúngica (CAMPOS et al., 2008; FARNESE et al., 2009), antitumoral (BORGES et al., 2011) a de abelhas africanizadas, esta também parece ser muito variável em sua composição química e dependente da flora e do clima local.

Dados na literatura sobre a geoprópolis relatam atividades biológicas como antimicrobiana (VELIKOVA et al., 2000 a,b; DUALIBE et al., 2007; LIBÉRIO, 2010;

LIBÉRIO et al., 2011; CUNHA et al., 2013; ARAÚJO et al., 2016); antiproliferativa, citotóxica (CANTANHEDE et al., 2007; CUNHA, 2013; DA CUNHA, et al., 2016); antitumoral (ASSUNÇÃO, 2011; CUNHA, 2013; CINEGAGLIA et al., 2013; BARTOLOMEU et al., 2016) e antioxidante (BATISTA, 2011; SILVA et al., 2013; SOUZA et al., 2013; DUTRA et al., 2014; BATISTA et al., 2016), leishmanicida (DUTRA, 2012), antiinflamatória (FRANCHIN et al., 2012, 2013), imunomodulatória (ARAÚJO et al., 2015) e propriedades gastroprotetoras (RIBEIRO-JUNIOR et al., 2015).

As suas composições químicas podem estar relacionada com as atividades biológicas, relatando a presença de compostos polifenólicos: ácidos fenólicos (ABREU et al., 2006; CUNHA et al., 2009; BATISTA, 2011; DUTRA et al., 2011; CUNHA, 2013; CARDOZO et al., 2015; SOUSA et al., 2015; ARAÚJO et al., 2016) e taninos (DUTRA et al., 2014), flavonoides (SILVA et al., 2013; SOUZA et al., 2013), cumarinas e benzoferonas preniladas (DA CUNHA et al., 2016), terpenos: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos, ácidos graxos, esteroides e saponinas (BANKOVA & POPOVA, 2007; DUTRA et al., 2008; ARAÚJO et al., 2015), compostos voláteis (TORRES-GONZÁLEZ et al., 2016). No entanto, a composição química varia de acordo com flora visitada pelas abelhas, a região e a época da coleta (BANKOVA, 2009).

A geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata* (*Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith) em diferentes localidades do estado do Maranhão, tem sido objeto de estudo nos últimos anos, por pesquisadores da Universidade Federal do Maranhão, com o objetivo de identificar suas características físicas, físico-químicas, químicas e ações biológicas. Os resultados demonstram presença de compostos fenólicos, flavonoides e triterpenos e estudos tem identificado ácidos fenólicos do tipo ácido gálico e taninos hidrolisáveis e em análises por CG/EM observaram a presença de açúcares, triterpenos, ácido anacárdico e alquilresorcinois (ABREU et al., 2006; DUTRA et al., 2008; CUNHA et al., 2009; DUTRA et al., 2014; ARAÚJO et al., 2015).

Tanto a própolis quanto a geoprópolis apresentam grande potencial para a geração de renda sustentável, especialmente no estado do Maranhão, mas a falta de parâmetros de fixação de identidade e qualidade para produção e comercialização, á semelhança dos produtos de *Apis mellifera* (BRASIL, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 3, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2001), dificultam essa geração de renda, portanto, é necessário o conhecimento de parâmetros químicos e biológicos, para estabelecer perfil de qualidade química, bem como parâmetros para validação dos produtos bioativos originários da

meliponicultura, como forma de contribuir para uma legislação para produtos de abelhas sem ferrão.

2.2.3. Pólen

Os grãos de pólen são estruturas microscópicas encontradas nos estames das anteras nas angiospermas (ARRUDA et al., 2013) e constituem as células reprodutivas masculinas das plantas (BASIM et al., 2006) e sua finalidade é transmitir seus gametas para o órgão sexual feminino da flor (ARRUDA et al., 2013), possui diâmetro variável entre 6 a 200 μm , formas e cores entre o branco, amarelo, laranja, vermelho e tons mais escuros, dependendo da sua origem botânica e da composição química existente, contendo compostos hidrossolúveis, representados pelos flavonoides e compostos lipossolúveis como lipídios, carotenoides e xantofilas, além de lipídeos, proteínas, carboidratos e água (SCHMIDT e BUCHMANN, 1992; NOGUEIRA-NETO, 1997; MURADIAN et al., 2005).

As espécies vegetais são fontes de recurso tróficos para as abelhas, que podem ser plantas nectaríferas, poliníferas e aquelas que apresentam ambos os recursos, ou seja, plantas poliníferas-nectaríferas (VILLANUEVA, 2002; BARTH, 2004). As plantas poliníferas são consideradas como aquelas fornecedoras quase exclusivamente de pólen para as abelhas (BARTH, 2004). O pólen constitui o principal alimento proteico para as abelhas adultas e suas larvas (SILVA; PAZ, 2012).

As abelhas sociais sem ferrão dependem nutricionalmente das plantas nativas, uma vez que coletam pólen e néctar, como fonte de proteínas, sais minerais e açúcares (AIDAR, 2010). O alto teor de proteínas, açúcares redutores e baixo teor de lipídeos encontrados, fazem do pólen um excelente complemento alimentar (CORONEL et al., 2004; PINHEIRO, 2012).

Segundo Nogueira-Neto (1997) ao coletar o pólen de várias flores, as abelhas acabam transportando-o e transferindo-o de uma flor para outra, realizando a polinização entomófila, sugando o néctar das flores, as abelhas carregam também o pólen.

Poucos são os estudos sobre a composição química de pólen de abelhas sem ferrão, predominando estudos com pólen proveniente de *Apis mellifera*, abelha com ferrão, conhecido como pólen apícola.

O pólen apícola é o resultado da aglutinação de diferentes grãos de pólen colhidos pelas abelhas, misturado com néctar e suas substâncias salivares (SILVA et al., 2009; MORAIS et al., 2011), o qual destaca-se por suas propriedades terapêuticas, bem como

suplemento alimentício, em função da presença de componentes nutritivos como proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas, lipídios e minerais (VILLANUEVA et al., 2002; MARCHINI et al., 2006; FEÁS et al., 2012; KOMOSINSKA-VASSEV et al., 2015). A sua composição química varia de acordo com a espécie vegetal, condições ambientais, idade e estado nutricional da planta (FUNARI et al., 2003; BARRETO et al., 2006). Em geral a composição química do pólen é variável contendo carboidratos, aminoácidos, proteínas, lipídeos, vitaminas, minerais, ácidos fenólicos, flavonoides e triterpenos (VILLANUEVA et al., 2002; SILVA et al., 2006; CARPES, 2008; CAMPOS et al., 1997). Os fenólicos e flavonoides extremamente benéficos à saúde humana, pois diminui o risco de doenças degenerativas, reduzindo o estresse oxidativo (SILVA et al., 2006; FEÁS et al., 2012; KOMOSINSKA-VASSEV et al., 2015).

Há séculos utiliza-se pólen de abelha na medicina popular para aliviar constipações, gripes, úlceras e envelhecimento precoce (LYNGHEIM et al., 1979; HANSSEN, 1979), bem como suplementação nutricional, visto conter substâncias nutricionalmente essenciais (SILVA, 2000). Pesquisas sobre as potencialidades e interesse terapêutico do pólen de abelhas do gênero *Apis*, vão desde o tratamento de rinites alérgicas (STAFF et al., 1990; BOYE, 1990), prevenção de problemas da próstata (KRELL, 1996; SHOSKES, 2002; SHOSKES, et al., 2003), hepatoprotetor (JUZWIAKS, 1993), antifúngico (GARCIA et al., 2001), antiteratogênico (ZHAO et al., 1989; 1990), imunomodulador (GEBARA et al., 2002), antiinflamatório (BOGDANOV, 2004; MARUYAMA et al., 2010), antioxidante (CAMPOS et al., 2003; CARPES et al., 2007; LEBLANC et al., 2009; FEÁS et al., 2012) e antimicrobiano (BASIM et al., 2006; CARPES et al., 2007; CABRERA, 2013). Muitas dessas propriedades têm sido relacionadas com os compostos fenólicos, especialmente flavonoides (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005; KOMOSINSKA-VASSEV et al., 2015).

As abelhas do gênero *Melipona*, especialmente, *Melipona fasciculata* coletam pólen botânico das anteras de diversas espécies de plantas e misturam com néctar e secreções salivares e colocam em cestas específicas (corbículas) que são localizados nas suas tíbias, formando as cargas de pólen (NOGUEIRA-NETO, 1997; CASTALDO; CAPASSO, 2002). Essas abelhas (operárias) coletam e transportam o pólen para a colmeia.

Após sua coleta nas flores pelas abelhas campeiras, ele é transportado para a colônia onde é estocado, sofrendo alterações físico-químicas, devido a processos fermentativos (PENEDO, TESTA & ZUCOLOTO, 1976). Esses processos diferem segundo o grupo a que

pertence a abelha, e permitem uma melhor assimilação dos nutrientes e melhor preservação do alimento estocado (MACHADO, 1971).

O armazenamento do alimento é feito em células de cera que parecem pequenos potes redondos quando estão com mel e pequenos tubos quando estão com pólen (Figura 1) (FREITAS, 2003).

Embora existam variações, o ninho da maioria dos meliponíneos, do gênero *Melipona* e demais gêneros, é formado por uma área de cria, constituída por favos sobrepostos na horizontal, onde existem diversas células de crias; e potes de cerume, para estocagem de pólen e mel (NOGUEIRA-NETO, 1997). A figura 1 mostra um ninho de abelhas do gênero *Melipona*, onde podem ser observadas as estruturas existentes.



Figura 1: Pólen de *Melipona fasciculata* Smith
FONTE: Abreu (2013)

Conforme verificado na figura 2 nos potes de estocagem de pólen estão a massa de pólen e sucros digestivos. Posteriormente, os potes são fechados para que ocorra a fermentação, a massa fermentada apresenta cor marrom levemente amarelado, odor característico, pH em torno de 2,6, com baixo número de microrganismos (alguns anaeróbios) e está pronto para ser consumido pelas abelhas (MACHADO, 1971, SILVA & ZUCOLOTO, 1994).

Os grãos de pólen manipulados pelos meliponíneos recebem o nome de samora nos estados do Centro-Sul e Sudeste, e de saburá ou samburá na Amazônia e no Nordeste.



Figura 2: Pote com pólen de *Melipona fasciculata* estocado
Fonte: Abreu (2013)

Estudos nutricionais em pólen acumulados por espécies de *Melipona* cultivado no estado do Amazonas (*Melipona compressipes manoensis*, *Melipona rufiventris paraensis*, *Melipona seminigra merrillae*) demonstraram variação de 15,7% a 23,8% de proteínas, 1,9 a 9,3% de lipídeos e 26,4 a 57,4% de glicídeos (SOUZA et al., 2004). Esteroides (0,33 a 53,16%) foram encontrados em pólen acumulado por *Melipona marginata* e *Melipona scutellaris*, cultivadas em meliponários no estado de São Paulo, com predominância de tipos polínicos de espécies das famílias Arecaceae, Fabaceae, Melastomatoceae e Myrtaceae (FERREIRA-CALIMAN et al., 2012).

O pólen colorido (amarelo e marrom) acumulado por *Melipona subnitida* Ducke (jandaíra), abelha sem ferrão nativa do Nordeste (NOGUEIRA-NETO, 1977) e da região pré-amazônica (KERR et al., 1987), conhecido como “siburá” é formado de flavonoides (narigenina, tricetina, isohraminetina e 8-metoxiherbacetina), além do açúcar D-manitol e do esteroide β -sitosterol e é constituído essencialmente de 98% de pólen de *Mimosa gemmulata* (Mimosoideae) (pólen de cor amarela) e de 89,4% de pólen de plantas da família Fabaceae (cor marrom), possuindo ainda alta ação antioxidante (SILVA et al., 2006), além da presença de aminoácidos e açúcares (SILVA et al., 2014).

Em área de Restinga no estado do Maranhão, 58 tipos de pólen foram acumulados por *Melipona subnitida* Ducke, pertencentes à família Fabaceae, Melastomaceae, Myrtaceae e Dilleniaceae (PINTO et al., 2014).

Silva et al. (2009) demonstraram que o pólen acumulado por *Melipona rufiventris* possui ação antioxidante e é composto pelos metabólitos secundários: p-hidroxicinâmico e os flavonoides (dihidroquercetina, isorhamenetina, isorhamenetina-3-O-6"-O-E-p-coumaryl, D-glucopiranosídeo, luteolina e quercetina).

Os flavonoides miricetina, diidromiricetina, quercetina e isorhamenetina foram isolados do pólen acumulado por *Scaptotrigona bipunctata* (canudo), cultivada em Fortaleza-Ceará (LINS et al., 2003).

Martins et al. (2011) descrevem que espécies das famílias *Pontederiaceae* e *Mimosaceae* são os mais representativos no espectro polínico das amostras de mel de *Melipona fasciculata*, no município de Palmeirândia, MA, Brasil.

Na região da Baixada maranhense, a melponicultura é uma prática antiga, e é umas das principais áreas de criação de abelhas sem ferrão no Estado. Albuquerque et al. (2013) demonstraram as espécies botânicas utilizados como recursos florais para *Melipona fasciculata* Smith, nessa região, visando o manejo dessas abelhas.

Martins et al. (2013) analisaram o pólen de 16 amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* em 03 regiões geográficas do Maranhão (Palmeirândia, região periodicamente com campos alagados, micro região do Norte do Maranhão; Barreirinhas, vegetação de cerrado; Belágua, vegetação de restinga). Na região de Palmeirândia, o tipo de pólen mais comum foram, em ordem de importância, *Mimosa pudica*, *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Eucalyptus* e Euphorbiaceae; na região de Barreirinhas, *Mimosa pudica*, *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Chamaecrista*, *Bauhinia*, *Erechtites*, *Eucalyptus* e Euphorbiaceae e em Belágua foram pólen de *Solanum*, *Chamaecrista*, *Psidium*, *Arecaceae*, *Desmodium* e *Meliaceae*; dados que contribuem para o conhecimento das plantas utilizadas pela tíuba como fonte de resina.

Em estudos mais recentes Ribeiro et al. (2016) também demonstra os principais tipos polínicos em geoprópolis de *Melipona fasciculata* em áreas alagadas e de cerrado no estado do Maranhão.

A composição florística usada por *Melipona fasciculata* em áreas de floresta amazônica foi demonstrada por Carvahó et al. (2016), como um avanço para a meliponiculturanas áreas de campos alagados no estado do Maranhão.

Outros trabalhos tem demonstrado o espectro polínico em mel de *M. mandaçaia* Smith, na região semi-árida do estado da Bahia, Brasil, onde o pólen de *Piptadenia rigida* (Mimosaceae) foi dominante e tendo as famílias Mimosaceae, Euphorbiaceae, Asteraceae e Anacardiaceae as mais representativas (ALVES et al., 2006).

Espectros polínicos de resíduos insolúveis de geoprópolis de abelhas sem ferrão do Brasil são compostos de grãos de pólen nectaríferos, poliníferos e anemófilos (FREITAS et al., 2012), assim a análise do pólen é um instrumento valioso na determinação da origem fitogeográfica de geoprópolis e capaz de detectar diferentes regiões produtivas (BARTH et al., 2003).

Trabalhos palinológicos em pólen foram conduzidos no Brasil com o objetivo de caracterizar a origem fitogeográfica, no entanto, estudos envolvendo geoprópolis de *M. fasciculata* em regiões do Espírito Santo, Minas Gerais e São Paulo determinou que o pólen dominante foi *Eucalyptus* para as amostras de *Melipona quadrifasciata* (BARTH & LUZ, 2003; PINHEIRO et al., 2012; ALBUQUERQUE et al., 2013).

De acordo com Conceição (2013) os tipos polínicos encontrados no pólen de *M. quadrifasciata anthioides*, da região semi-árida da Bahia, pertencem a 33 famílias, 61 gêneros e 85 espécies, sendo que os tipos polínicos que mais contribuíram para a dieta das abelhas foram *Mimosa arenosa* e *Mimosa tenuiflora*.

Segundo Roubik (1980) e Barth (1998) as informações sobre pólen das abelhas ajudam a compreender as interações biológicas entre as plantas e seus polinizadores, assim como, o comportamento de competição entre as espécies por alimentos em diferentes ecossistemas. Portanto, o conhecimento referente ao pólen ofertado em uma região é importante no sentido de promover um conhecimento das fontes polínicas usadas pelas abelhas sem ferrão e as espécies vegetais de interesse melipónica, contribuindo para o fortalecimento da meliponicultura.

Para o entendimento da biologia dos meliponíneos, um dos primeiros passos é o conhecimento de seus hábitos alimentares. O levantamento de plantas fornecedoras tanto de pólen como de néctar é importante visando conhecer esses elementos essenciais a vida das

abelhas, uma vez que o néctar e o pólen são as principais recompensas da planta para as abelhas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral:

Avaliar a composição química, antioxidante, antimicrobiana e estudos palinológicos do pólen de *Melipona fasciculata* Smith.

3.2. Objetivos específicos:

- Avaliar a atividade antioxidante de extratos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith;
- Avaliar a atividade antimicrobiana de extratos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith;
- Caracterizar a composição química dos extratos do pólen de *Melipona fasciculata*;
- Caracterizar os tipos polínicos referentes às amostras de pólen de *Melipona fasciculata*.

4. JUSTIFICATIVA

A Meliponicultura é uma atividade mundialmente conhecida, no Brasil especialmente nas regiões Norte e Nordeste, é uma atividade em expansão para produção de produtos meliponícolas, como mel, própolis, geoprópolis, cera e pólen, os quais são fontes de renda para meliponicultores, como fontes de produtos para uso na alimentação e para indústrias cosméticas e farmacêuticas.

A meliponicultura no Brasil ainda é carente de práticas tecnológicas que aprimorem o processo de extração dos produtos, tornando-os mais valorativos. Porém, o que mais dificulta o seu crescimento é ausência de uma legislação específica para os produtos de abelhas sem ferrão (COLETTTO-SILVA, 2005). Diferentemente do que ocorre no caso da apicultura, com a criação de *Apis*, a meliponicultura sofre de um vazio legal, particularmente na parte sanitária, o que dificulta a ampliação do mercado dos produtos, especialmente no que se refere à exportação e comercialização (LOPES et al., 2005).

Melipona fasciculata Smith (tiúba) é bem disseminada na Amazônia e, em especial, no Estado do Maranhão. Neste Estado é cultivada há séculos pelas populações indígenas e caboclas para a geração de renda, principalmente nas regiões da Baixada e Cerrado

maranhenses, fazendo parte dos arranjos produtivos e vem se consolidando como atividade rentável para a produção de mel, mas ainda não agregam valor ao pólen meliponícula.

Nos dados da literatura demonstram o potencial químico e biológico do pólen apícola, acumulado por *Apis mellifera* (KAMOSINKA-VASSEC et al., 2015) para uso na alimentação, na medicina e cosmetologia.

Estudos químicos e biológicos sobre pólen de abelhas sem ferrão são escassos, mas os poucos trabalhos com pólen de espécies de *Melipona* cultivados nos estados do Ceará, Piauí e Amazonas demonstraram ação antioxidante e composição química de ácidos cinâmicos e flavonoides, (LINS et al., 2003; SILVA et al., 2006; VILLAREAL et al., 2009; SILVA et al., 2009), esteroides (SILVA et al., 2006) e açúcares (NETO et al., 2009).

Ressalta-se a falta de parâmetros de fixação de identidade e qualidade para produção e comercialização, á semelhança dos produtos de *Apis mellifera* (BRASIL, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 3, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2001), dificultam essa geração de renda, torna-se imperioso o conhecimento de parâmetros químicos e biológicos, para estabelecer perfil de qualidade química, bem como parâmetros para validação dos produtos bioativos originários da meliponicultura, como forma de contribuir para uma legislação para produtos de abelhas sem ferrão.

Assim propomos estudos químicos, biológicos e palinológicos do pólen de *Melipona fasciculata* Smith com o objetivo de avaliar ação antimicrobiana, antioxidante, identificar a composição química e obter dados das espécies vegetais fontes de recursos tróficos para a abelha. Objetivando obter parâmetros de fixação de identidade e qualidade, para validar produtos a partir do pólen desta espécie e buscar novas fontes de insumos de produtos antimicrobianos e antioxidantes e conhecer as espécies vegetais, cujos resultados possam contribuir para a geração de emprego e renda no campo, especialmente nos programas de agronegócio meliponícola.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Coleta das amostras de pólen

As amostras de pólen de *Melipona fasciculata* Smith (09), foram coletadas diretamente em colméias de meliponários dos municípios de Palmeirândia (S 02°40.803' HO 44°52.661') no ano de 2013 codificadas como P1(16,2g), P2(53,3g), P3(12,3g), de Fernando Falcão (S06°08. 992' HO 44°54.947) em 2012, codificadas como P4(132,8g), P5(187,5g), P6(57,1g) no estado do Maranhão; em Belém, sede Embrapa/Belém – PA, codificadas como P7(235,7g), em São Francisco do Pará codificada como P8(101,7g) e Ilha das Onças codificada como P9 (185,8g), no estado do Pará, em abril/2013. As amostras foram acondicionadas, isoladamente e mantidas sob refrigeração até a utilização.

5.2. Caracterização da área de estudo

O município de Palmeirândia localiza-se na porção noroeste do estado do Maranhão, pertencente à Baixada maranhense, região caracterizada pela complexa interface de ecossistemas, abrigando rica fauna e flora aquática e terrestre, tais como rios, lagos, estuários, áreas alagáveis, agroecossistemas, além de grande sistema de áreas inundáveis. A região está inserida no Bioma Amazônia, no setor oriental, sendo parte da Amazônia Legal Brasileira (BRASIL, 1973; 1984); formada pela tensão ecológica entre as formações de Cocais ao sul, Cerrado a leste, floresta amazônica a oeste, com sistemas marinhos ao norte, com rica biodiversidade, especialmente a flora (RÊGO & ALBUQUERQUE, 2010).

Já o município de Fernando Falcão localiza-se no centro geográfico do Maranhão, sendo caracterizado pela região de Cerrado maranhense e que possui elevada diversidade florística o que leva à heterogeneidade do bioma dessa região (SILVA et al., 2006). Também caracteriza-se pela presença de savanas que são formadas por arbustos de casca grossa, galhos retorcidos, vegetação rasteira e dentre espécies de plantas encontradas na região temos o *Anacardium humile* (cajuí), *Byrsonima crassifolia* (murici), *Carapa guianensis* (andiroba), *Hymenaea courbaril* (jatobá) e outras que são utilizadas pelas abelhas para polinização.

São Francisco do Pará e Ilha das Onças pertencem ao município de Belém, capital do estado do Pará. O município de Belém está localizado a 01° 27'20" de latitude Sul e

48°30'15" de longitude. A vegetação dessas ilhas é classificada de floresta densa de planície e manguezal. Na floresta densa de planície na várzea alta, a vegetação é constituída principalmente de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), ucuúba (*Virola surinamensis* Rol.), açaçú (*Hura crepitans* L.), sumaumeira (*Ceiba pentandra* L.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell.) (BRASIL, 1974). Na várzea baixa encontram-se *Euterpe oleracea*, *Astrocaryum murumuru*, *Pseudobombax munguba* e *Quaribea guianensis*. No manguezal, localizado na parte mais baixa da ilha e freqüentemente inundado, a vegetação é composta por mangue vermelho (*Rhizophora mangle*), siriúba (*Avicennia nitida*) e aninga (*Montrichardia linifera*) (BRASIL, 1974).

5.3. Obtenção dos extratos hidroalcoólicos de pólen

As amostras de pólen de *Melipona fasciculata* Smith separadamente foram submetidas à maceração exaustiva com álcool etílico 70% (v/v) no hidromódulo 1:2 (m/v) por 48 h. As soluções extrativas foram filtradas e concentradas em evaporador rotativo, obtendo-se os extratos hidroalcoólicos de pólen, codificados como EHP1 a EHP9.

5.4. Determinações da concentração de polifenólicos totais (CFT) nos extratos hidroalcoólicos de pólen:

Os teores dos polifenólicos totais nos extratos foram determinados utilizando reagente Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 20%. A mistura reacional foi mantida no escuro por 2h a temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 760 nm usando espectrofotômetro UV-Vis Lambda 35, (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA, USA). A CFT foi calculada a partir de uma curva de calibração de ácido gálico (1-3,0 µg/ml) e expresso em equivalente de ácido gálico (%). As análises foram realizadas em triplicata (CUNHA et al., 2009).

5.5. Determinações da concentração de flavonoides totais (CFVT) nos extratos hidroalcoólicos de pólen:

Para concentração de flavonoides totais utilizou-se método fotocolorimétrico com solução metanólica de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) a 5%. A mistura foi mantida no escuro durante 30 min à temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 425 nm em espectrofotômetro UV-Vis Lambda 35 (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA, USA). A concentração foi calculada a partir da curva de calibração construída com solução padrão de

quercetina (Merck) (1-3,0 µg/mL) e expressa como equivalente de quercetina (%). As análises foram realizadas em triplicata (DUTRA et al., 2008; CUNHA et al., 2009).

5.6. Avaliação dos perfis cromatográficos dos extratos hidroalcoólicos de pólen

Os extratos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de ultravioleta (CLAE-UV-Vis), em escala analítica, utilizando um sistema Finnigan Surveyor Autosampler (Thermo), com coluna analítica C18 de fase reversa (250mm x 4,60 mm, 5 µm, Thermo) protegida por uma pré-coluna C-18 (4 x 3 mm, Gemini, Phenomenex). A composição da fase móvel utilizada foi: água Milli-Q (Millipore) com 0,1% de ácido fórmico (Merck) (eluente A) e acetonitrila (CLAE, Merck) (eluente B). A eluição foi realizada inicialmente com o gradiente de 95% A e 5% B, seguindo com 40% A e 60% B em 40 min, 10% A e 90% B em 61 min e finalizando com 100% B em 70 min a 254nm. As amostras foram diluídas em metanol, acetonitrila e água Milli-Q com 0,1% de ácido fórmico (1:1:0,5) e filtradas em filtro de Nylon (Allcrom, 0,22µm). O volume da amostra injetado foi de 25 µL, com fluxo de 1,0mL/min e detecção em 254 nm.

5.7. Análise dos extratos de pólen por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas (CLAE/DAD/EM/EM)

Os extratos foram analisados em cromatografo líquido de alta eficiência acoplado a um espectrômetro de massas CLAE/LC-10AD (Shimadzu), equipado com detector de arranjo de fotodiodo, acoplado com espectrômetro de massas LC-MS/MS (Bruker Daltonics Esquire 3000 Plus), com analisador tipo íon trap quadrupolo em modo *tandem*, com ionização por elétron ebulização (*electrospray ionization*, ESI). A fase móvel utilizada foi água Milli-Q (Millipore) com 0,1% de ácido fórmico (eluente A) e metanol (eluente B). A eluição foi realizada em gradiente linear de 0 min - 5% B 2 min - 40% B 20 min - 50% B 30 min – 60% B 40 min – 70% B 50 min – 80%B utilizando coluna analítica 66 C18 de fase reversa (250mm x 4,60 mm, 5 µm, Thermo). As amostras foram diluídas em metanol e água Milli-Q 0,1% de ácido fórmico na concentração final de 5mg/mL e filtradas em filtro de seringa Nylon (0,22µm, Allcrom). O volume da amostra injetado no sistema foi de 25 µL, com fluxo de 0,6 mL/min e detecção UV-Vis em 254 nm. Os espectros de massas foram obtidos em modo negativo, utilizando nitrogênio ultra-puro como gás de nebulização com fluxo de 7.0 L/min, pressão de 27 psi, potencial de 4.0 kV, temperatura de 320°C e fluxo para massas de

100 μ L/min, em baixa resolução, na faixa de 100 a 1000 m/z . A identificação dos constituintes foi obtida com base na massa do íon molecular, na fragmentação do íon molecular, espectros de UV-visível encontrados na literatura.

5.8. Análises dos extratos de pólen por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)

Os extratos EHP 1 a EHP 9 (10mg) foram separadamente solubilizados em piridina (300 μ L), 100 μ L N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida com trimetilclorosilano (BSTFA/TMCS), seguidos de aquecimento a 80°C por 1 hora, de acordo com Roessner et al., (2001) com modificações, para obtenção dos extratos derivatizados, cerca de 1 μ l de cada extrato derivatizado foi injetado e analisado por CG/EM.

As análises dos extratos derivatizados foram realizadas utilizando cromatógrafo gasoso (CG Agilent 6890) acoplado a espectrômetro de massas (Agilent 5973N MSD), com injetor automático (Agilent 6890), coluna capilar de sílica fundida HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), hélio como gás de arraste a vazão de 1,0 mL/min, ionização por impacto de elétrons a 70 eV e fonte de íons em 200°C. As temperaturas do injetor e detector foram mantidas a 230°C e 250°C. A análise foi realizada utilizando programação de 5 min de aquecimento isotérmico (70°C) gradiente de temperatura de 5 °C/min a 310°C e 1 min de aquecimento a 310°C, em tempo de eluição de 60 minutos. O sistema foi equilibrado por 6 min a 70°C antes da injeção automática da próxima amostra. Os espectros de massas foram registrados com uma velocidade de varredura de 2 scan/segundos de 50 a 650 m/z . A identificação dos constituintes químicos foi realizada por comparação aos espectros de massas obtidos com registros das bibliotecas computacionais NIST, AMIDS 2.0. A presença das substâncias nos extratos hidroalcoólicos do pólen foi determinada considerando a área dos picos em percentagem do íon corrente total (%ICT).

5.9. Determinações das atividades antioxidantes nos extratos hidroalcoólicos de pólen:

As atividades antioxidantes foram realizadas pelos métodos ensaios químicos, incluindo 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) e o ferric reducing antioxidant power (FRAP).

5.9.1. Ensaio de sequestro de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH')

A atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de pólen foram avaliados pelo ensaio do radical livre DPPH' segundo Brand-Williams et al. (1995) com modificações. As

amostras foram diluídas em metanol, em diferentes concentrações (5,0-100,0 µg/mL) e adicionadas a uma solução de DPPH^{*} em metanol (40,0 µg/mL). Após 30 minutos de reação à temperatura ambiente, no escuro, a absorbância de cada solução foi lida a 517 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, PerkinElmer). Metanol foi utilizado como controle e a solução de DPPH^{*} foi usada como branco. Padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) foi tratado sob as mesmas condições que as amostras. A porcentagem da atividade antioxidante (% AA) foi calculada pela equação:

$$\% \text{ AA} = (\%) = 100 - [(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) \times 100 / A_{\text{controle}}],$$

onde A_{controle} é a absorbância do controle (solução com radical DPPH^{*} e metanol) e A_{amostra} é a absorbância do radical na presença das amostras ou do padrão.

A porcentagem da atividade antioxidante foi relacionada com a concentração da amostra para a obtenção da concentração eficiente (CE_{50}), definida como a concentração da amostra necessária para causar uma inibição de 50% da concentração inicial de DPPH. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

5.9.2 Ensaio da capacidade redutora de ferro (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power)

O método descrito por Benzie e Strain (1996) com algumas modificações, foi utilizado para determinar a atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de pólen baseado na redução do ferro usando o ensaio FRAP, que mede a capacidade das amostras, em meio ácido (pH 3,6), de reduzir o complexo férrico 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (Fe^{3+} - TPTZ) para a forma ferrosa de coloração azul intensa (Fe^{2+}), que absorve a luz em 593 nm. O reagente FRAP foi preparado imediatamente antes da análise através da mistura de 25 mL de tampão acetato (300 mmol.L⁻¹, pH 3,6), 2,5 mL de solução de TPTZ (10 mmol.L⁻¹ TPTZ em 40 mmol.L⁻¹ HCl) e 2,5 mL $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ (20 mmol.L⁻¹) em solução aquosa. Uma alíquota de 100 µL de diferentes concentrações das amostras (1-100,0 µg/mL) foi adicionada a 300 µL de água destilada e 3,0 mL de reagente de FRAP e as misturas foram incubadas no banho de água a 37°C durante 30 minutos. A absorbância da mistura reacional foi lida a 593 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, PerkinElmer) utilizando a solução de FRAP como branco.

A curva de calibração foi construída utilizando-se diferentes concentrações de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0-2000 µmol.L⁻¹) ($r^2 = 0,9987$). Os resultados foram expressos em milimoles de

equivalente de FeSO₄/g de amostra. Padrões de Trolox foram tratados sob as mesmas condições que as amostras. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

5.10. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith

A avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos de pólen foi realizada através da determinação de halos de inibição. As análises foram realizadas em triplicata. Para avaliar tais atividades os microorganismos utilizados foram *Streptococcus mutans* (ATCC UA159), *Candida albicans* (ATCC 2001) e *Candida glabrata* (ATCC 90028).

As amostras de extrato seco de pólen, separadamente, foram solubilizadas em etanol a 70%, centrifugadas (5 min/10.000 rpm) e os sobrenadantes foram esterilizados por filtração (filtros com diâmetro do poro de 0,22 µm, Millipore, USA). As soluções esterilizadas foram mantidas em frascos estéreis a 4°C até a realização dos ensaios.

A determinação dos halos de inibição foi realizada pelo método de difusão em ágar, aplicando-se volumes de 25 µL dos extratos, em poços de 5 mm de diâmetro, em placas de ágar (FERRO et al., 2003). Os meios de cultura utilizados foram ágar Brain Heart Infusion (BHI-DIFCO®) para *Streptococcus mutans* e ágar dextrose Sabouraud (DIFCO®) para *Candida albicans* e *Candida glabrata*. Foram utilizadas culturas de 24 horas de *Streptococcus mutans* em caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth - DIFCO®) e de 48 horas obtidas das placas de ágar dextrose Sabouraud para *Candida albicans* e *Candida glabrata*. O inóculo bacteriano foi ajustado, em solução salina estéril, utilizando-se escala 0,5 de MacFarland, que resultou em uma suspensão com concentração aproximada 10⁸ UFC/mL. As culturas foram semeadas nas placas, com auxílio de swab estéril. O etanol 70% foi utilizado como controle negativo, por ser o solvente dos extratos. Para o controle positivo foi utilizado o gluconato de clorexidina a 0,12% e o fluconazol (128 µg/mL). As placas de ágar foram incubadas em jarra de Gaspak, em microaerofilia, incubadas a 37°C em estufa bacteriológica por 48 horas, para *Streptococcus mutans*. Os testes de sensibilidade para *Candida albicans* e *Candida glabrata* foram realizados em aerobiose a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, os halos de inibição foram medidos e expressos em mm de acordo com os critérios de interpretação do CLSI (CLSI, 2007).

5.11. Análise palinológica das amostras de pólen de *Melipona fasciculata* Smith

5.11.1. Preparação laboratorial das amostras de Pólen

A metodologia utilizada na preparação palinológica das amostras foi a de Barth (1998). Separadamente, 0,5 gramas de cada amostra de pólen, foi extraído com 15 mL de álcool absoluto durante 24 horas. O sedimento depositado no fundo do tubo após a centrifugação foi submetido a ebulição com KOH (hidróxido de potássio) a 10% em banho-maria, durante 2 minutos e tratado por acetólise (ERDTMAN, 1960). A amostra foi colocada em banho ultrassônico por 3 minutos utilizando-se tubos de plástico especiais providos de anel vedante e tela de nylon de malha de 5 µm para eliminação de outros fragmentos. O sedimento restante de dentro do tubo foi transferido para um tubo de centrífuga, lavando-se com água destilada. Em seguida foi feita a centrifugação e decantação. Adicionou-se ácido acético glacial ao sedimento depositado no fundo do tubo de centrífuga, permanecendo durante uma noite.

Nesta fase, preparou-se uma lâmina de microscopia do sedimento retido na tela de aço de filtragem antes da aplicação da mistura de acetólise para a observação de outros materiais orgânicos e inorgânicos (tais como a eventual ocorrência de esporos de fungos escuros ou fumaginas, cristais, sedimento de terra, ráfides, restos vegetais, matéria orgânica, grãos de amido, cerdas de patas de abelhas, massa granulosa, entre outros), que pode auxiliar na caracterização geográfica e botânica das amostras de pólen (Barth & Luz, 2003).

Em seguida o sedimento que permaneceu em ácido acético foi submetido ao método de acetólise de Erdtman (1960) que consiste em: 1. Oxidação do sedimento numa mistura 32 9:1 de anidrido acético e ácido sulfúrico em banho-maria até alcançar a temperatura de 80° C por cerca de 1 a 2 minutos; 2. Centrifugação e decantação; 3. Lavagem em água destilada por duas vezes e em água-glicerinada (1:1) por uma vez, centrifugando-se e decantando-se. O sedimento foi depositado entre lâmina de microscopia e lamínula com um cubinho de gelatina glicerinada, vedando-se com parafina.

5.11.2. Análise palinológica das amostras de Pólen

A avaliação palinológica das amostras de pólen foi baseada na interpretação da contagem de pelo menos 300 grãos de pólen por amostra, observados em microscopia óptica de 400 a 1000X de aumento. A estimativa das frequências relativas dos grãos de pólen em cada amostra de pólen se baseou em classes de frequência segundo Zander (*apud* Maurizio &

Louveaux, 1965) em Pólen Dominante (>45%), Pólen Acessório (15 à 45%), Pólen Isolado Importante (3 à 15%) e Pólen Isolado Ocasional (<3%) do total contado.

5.12. Análises estatísticas

Os teores de polifenóis totais e flavonoides foram expressos como média \pm desvio padrão. Na atividade antioxidante dos extratos os resultados também são expressos como média \pm desvio padrão, com eficiência anti-radical estabelecida utilizando análise de regressão linear no intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Os resultados estão representados pelo valor da CE_{50} , concentração efetiva 50%, e avaliados empregando análise de variância (ANOVA) one-way, seguidos do teste de Turkey, onde os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. Todos os dados foram analisados pelo Programa GraphPad Prism[®] versão 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, EUA).

6. RESULTADOS

Os rendimentos extrativos, os teores de polifenólicos e flavonoides totais, assim como atividade antioxidante (métodos DPPH e FRAP), estão mostrados na Tabela 1. Os rendimentos dos processos extrativos das amostras de pólen obtidos por maceração exaustiva em etanol a 70% variaram entre 20,78-60,70%, tendo EHP 6, o extrato com maior rendimento, cujo pólen de *Melipona fasciculata* é proveniente do município de Fernando Falcão/Suturno, estado do Maranhão, Brasil (Tabela 1).

Os extratos EHP9, EHP8, EHP1 e EHP4 apresentaram as maiores concentrações de fenólicos totais, enquanto EHP7, EHP9, EHP3 e EHP8, possuem maiores teores de flavonoides totais.

O extrato EHP9 exibiu maior atividade antioxidante dentre os extratos analisados pelo método de sequestro de radicais livres – DPPH, com valor de IC_{50} de $70,73 \mu\text{g/mL}^{-1}$. No ensaio com FRAP, também o EHP9 apresentou maior capacidade de redução férrica com $1,27 \text{ mmol Fe}^{2+}\text{g}^{-1}$.

Tabela 1. Valores dos rendimentos extrativos, teores de polifenóis e flavonoides totais, atividade antioxidante (métodos DPPH, FRAP) dos extratos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith.

Extratos	Rendimento extrativo	Polifenóis totais (%) ^{ab}	Flavonoides totais (%) ^{ac}	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /g)
EHP1	50,88	7,72±0,92 ^a	0,62±0,01 ^a	235,36±1,32 ^a	0,14±0,13 ^a
EHP2	33,68	6,00±0,55 ^a	0,60±0,01 ^b	257,81±0,49 ^{bd}	0,09±0,01 ^{ab}
EHP3	44,55	5,89±0,52 ^a	0,68±0,01 ^b	335,88±0,80 ^{bd}	0,22±0,05 ^b
EHP4	50,22	6,46±0,57 ^a	0,60±0,03 ^b	398,74±1,34 ^c	0,29±0,01 ^a
EHP5	54,93	5,92±0,10 ^a	0,59±0,02 ^b	195,66±0,07 ^d	0,20±0,04 ^{ab}
EHP6	60,70	4,98±0,22 ^a	0,60±0,02 ^b	298,02±0,61 ^{bc}	0,27±0,15 ^{ab}
EHP7	44,40	5,4±0,34 ^a	1,10±0,01 ^c	231,67±1,27 ^d	0,38±0,03 ^{ab}
EHP8	21,93	11,16±0,29 ^b	0,67±0,03 ^{a,d}	319,55±0,42 ^{bc}	0,49±0,32 ^{ab}
EHP9	20,78	14,66±1,41 ^c	0,74±0,01 ^d	70,73±0,01 ^c	1,27±0,12 ^c

EHP1, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Ilha de São João Donato(1); EHP2, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Ilha de São João Donato(2); EHP3, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Cauaçu; EHP4, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Moxotó; EHP5, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Suturno (1); EHP6, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Suturno (2); EHP7, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Embrapa/Belém; EHP8, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, São Francisco do Pará; EHP9, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Ilha das Onças; (a) Resultados expressos como médias ± desvio padrão dos ensaios de avaliação quantitativa para polifenóis totais e flavonoides totais nos extratos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith (n:3), (b) expresso como equivalente de ácido gálico; (c) expresso como equivalente de quercetina. DPPH, o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; FRAP - ferric reducing antioxidant power;. Letras diferentes na mesma coluna indicam uma diferença significativa (Teste de Tukey, p< 0,05).

Análises dos nove extratos de pólen por CG/EM estão dispostos na Tabela 2. A identificação dos componentes foi baseada na comparação de seus espectros de massas disponíveis no Software NIST AMIDS 2.0 e espectros de massas descritas na literatura.

Tabela 2. Composição química dos extratos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith de diferentes regiões do estado do Maranhão e Pará.

Classes de compostos	Substâncias químicas ^a	Extratos (EHP)								
		EHP-1	EHP-2	EHP-3	EHP-4	EHP-5	EHP-6	EHP-7	EHP-8	EHP-9
		ITC (%) ^b								
Ácidos graxos	Ácido butanóico	-	-	-	-	-	-	-	-	27,90
	Ácido etanedióico	-	-	-	-	-	-	3,64	-	-
	Ácido glucanóico	-	-	-	-	-	-	-	-	8,9
	Ácido hexadecanóico	-	1,18	0,89	-	-	-	3,45	12,76	6,34
	Ácido linoleico	-	1,85	0,59	-	-	-	2,95	17,12	-
	Ácido octadecatrienóico	-	0,85	0,57	-	-	-	-	0,91	11,23
	Ácido pentanedióico	-	-	-	-	-	-	-	-	0,14
	Ácido propanoico	2,62	-	8,97	3,38	3,81	3,18	18,10	-	25,48
Ácidos fenólicos	Ácido 2-propenóico	-	-	-	-	2,00	-	-	-	-
	Ácido cinâmico	-	-	-	-	-	-	-	-	0,24
Ácidos orgânicos	Ácido gálico	-	-	-	-	-	-	-	-	0,45
	Ácido glucônico	-	-	-	32,94	13,42	26,82	-	10,66	-
Aminoácidos	Ácido láctico	-	-	-	-	-	-	0,55	-	-
	Alanina	-	-	-	-	-	-	-	-	0,11
	Prolina	0,68	-	-	-	-	-	2,31	-	0,06
Açúcares/ (Álcoois)	Valina	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17
	Adonitol	-	-	-	-	-	-	0,84	-	-
	Dulcitol	-	-	2,20	-	-	-	1,85	-	-
	Fucitol	-	0,65	-	-	0,56	-	-	-	-
	Fructofuranose	-	-	-	9,78	9,25	16,48	-	5,11	-
	Fructopirranose	-	-	-	0,67	-	-	-	-	-
	Frutose	-	-	-	9,52	6,84	-	-	4,83	-
	Galactose	-	-	-	-	-	-	-	-	6,11
	Galactitol	-	-	20,34	-	-	-	-	-	-
	Glicopirranose	-	-	-	-	-	0,88	-	-	-
	Glucitol	81,33	74,65	32,70	35,33	51,42	44,11	39,42	6,92	-
	Inosose	-	-	-	-	3,73	-	-	-	-
	Lactose	-	-	0,57	-	-	-	-	0,46	-
	Maltitol	-	-	-	1,88	5,06	2,31	-	-	-
	Manobiose	-	-	-	1,38	-	1,73	-	0,88	-
	Melibiose	-	-	-	-	0,47	-	-	-	-
	Pentitol	-	-	2,29	-	-	-	-	-	-
	Pinitol	-	-	-	-	-	-	0,79	-	-
	Ribitol	0,43	0,77	0,42	-	-	-	0,74	-	2,45
	Sorbopirranose	-	-	-	-	-	1,13	-	-	-
Tagatopirranose	-	-	-	-	1,64	-	-	-	-	
Xylitol	-	-	-	-	-	-	-	-	0,16	
Inositol	-	0,70	1,85	-	-	-	2,75	-	-	
Triterpenos	β – Amirina	-	-	-	-	-	-	1,85	1,07	-

^a Os nomes dos constituintes sem os trimetilsilil (TMS) substituintes; ^b íons corrente totais; EHP1, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Ilha de São João Donato(1); EHP2, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Ilha de São João Donato(2); EHP3, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Cauaçu; EHP4, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Moxotó; EHP5, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Suturno (1); EHP6, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Suturno (2); EHP7, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Embrapa/Belém; EHP8, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, São Francisco do Pará; EHP9, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Ilha das Onças.

Os constituintes químicos das classes dos ácidos graxos, ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos, ácidos fenólicos e triterpenos predominaram nos extratos.

Os extratos ativos EHP3, EHP5 e EHP9 foram submetidos às análises de CLAE/UV-Vis (254 nm) cujos cromatogramas estão dispostos na figura 3.

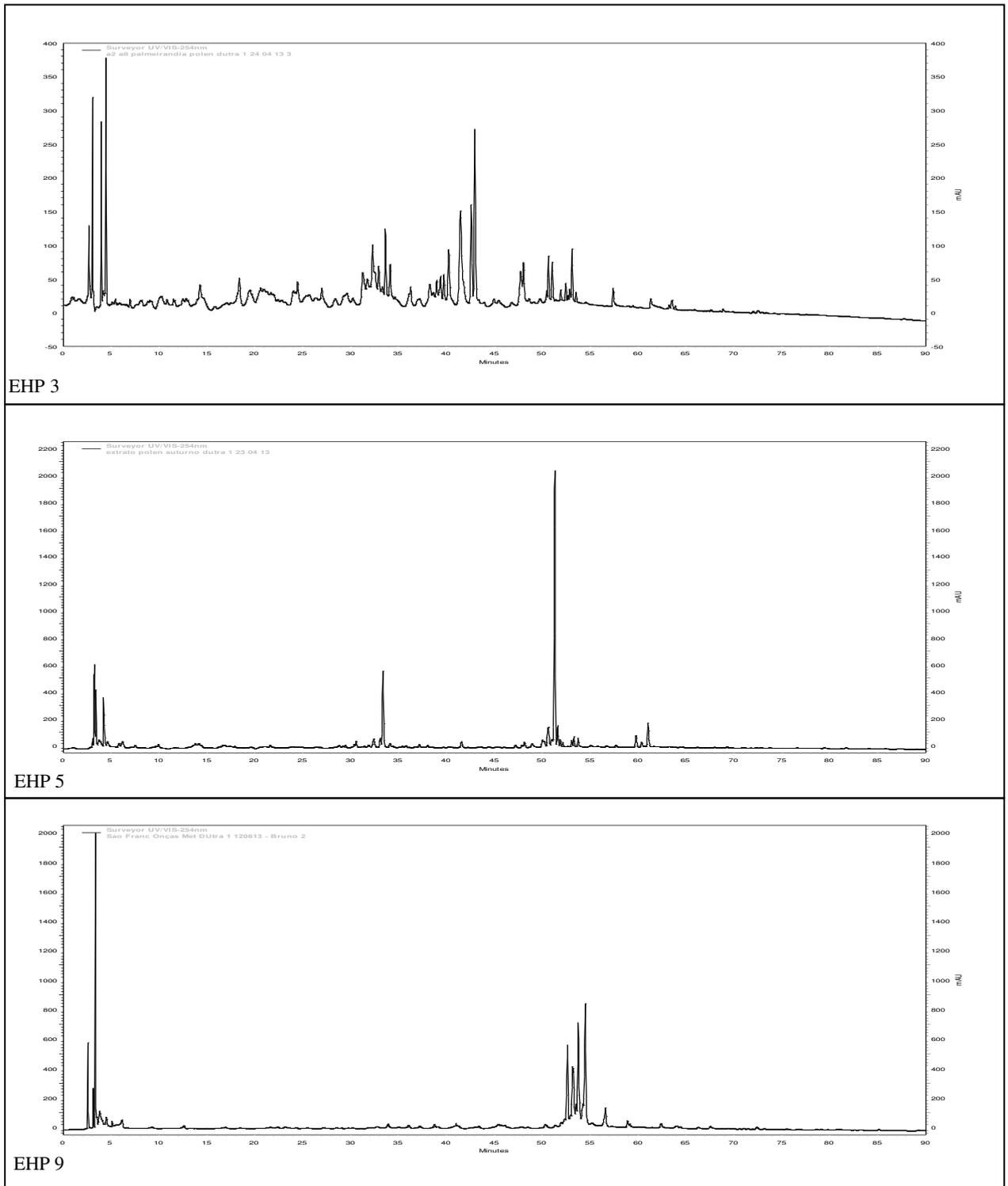


Figura 3. CLAE/UV cromatogramas dos extratos hidroalcoólicos de pólen; EHP3= extrato hidroalcoólico de pólen obtido de material proveniente do meliponário do município de Palmeirândia, Maranhão; EHP5= extrato hidroalcoólico de pólen obtido de material proveniente do meliponário do município de Fernando Falcão, Maranhão; EHP9= extrato hidroalcoólico de pólen obtido de material proveniente do meliponário de São Francisco das Onças, Pará.

As análises dos cromatogramas revelam composição química correspondente a compostos flavônicos, flavônicos glicosilados e compostos fenólicos.

Os extratos EHP1 a EHP6 foram submetidos à LC/EM/EM e as substâncias químicas estão dispostas na Tabela 3. A tabela sumariza a tentativa de identificação dos compostos químicos, seus tempos de retenção, bem como seus fragmentos originados.

Tabela 3. Tentativa de identificação de substâncias químicas em pólen de *Melipona fasciculata* Smith por CLAE-DAD-ESI-MS/MS.

EHP	TR (min.)	Substâncias identificadas	[M - H] ⁻ (m/z)	Fragmentos MS/MS (m/z)
EHP 1				
1	38.8	Isoramenetina	315.5	314.7
2	41.7	Kamferol	286.5	284.7
3	42,9	Cirsiliol	332.5	330.8
EHP 2				
2	38.3	Kampferol	286.6	284.7
EHP 3				
1	5	Glucitol	183.5	181.6
2	30.1	Quercetrina	448	300.7
3	34.4	Afzelina	433.7	285.7, 431.8
EHP 4				
4	5.2	Ácido glucônico	195.1	128.7, 176.5
1	42.2	Isoramenetina	35.3	314.7
5	25.2	Tilirosídeo	594.6	592.8, 284.2
6	37.4	N1 ,N5 ,N10-tri-p-(E,E,E)-coumaroylspermidina	582.7	342.3; 462.0
EHP 5				
7	24.5	Isoramenetina 3-0-rutinosídeo	623.5	315
8	37.4	Hidroxysaffor yellow	612.6	477, 492.1
EHP 6				
2	36.7	Kamferol	593.6	284.7
1	41.6	Isoramnetina	315.5	314.7

TR, tempo de retnção; [M - H]⁻ (m/z), íon molecular; EHP1, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Ilha de São João Donato (1); EHP2, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Ilha de São João Donato (2); EHP3, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Cauaçu; EHP4, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Suturno; EHP5, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, São Francisco do Pará; EHP6, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Ilha das Onças.

Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos EHP1 a EHP 9 estão dispostos na tabela 4, onde avaliamos ação dos extratos de pólen em diferentes concentrações para os microorganismos *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* e *Candida glabrata*.

Dentre os microorganismos avaliados, observou-se que *Streptococcus mutans* foi o mais sensível, tendo seu crescimento inibido por seis extratos de pólen. Os melhores resultados foram obtidos com os três extratos de pólen oriundos do município de Palmeirândia-MA (EHP1, EHP2 e EHP3), os quais impediram o crescimento bacteriano em uma concentração de 100mg/mL. O EHP 9, também inibiu o crescimento, porém em

concentração de 500 mg/ mL, o que não aconteceu com o mesmo extrato na concentração de 100mg/mL.

Tabela 4: Atividade *in vitro* dos extratos de pólen contra *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* e *Candida glabrata*

Extratos de pólen	Concentração	Inibição de halo em mm		
		<i>S. mutans</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
EHP1	100mg/mL	9	0	0
EHP2	100mg/ mL	9,3	0	0
EHP3	100mg/ mL	8	0	0
EHP4	100mg/ mL	0	0	0
EHP5	100mg/ mL	7,5	0	0
EHP6	100mg/ mL	0	0	0
EHP7	100mg/ mL	0	0	0
EHP8.1	100mg/ mL	0	0	0
EHP8.2	500mg/ mL	8	0	0
EHP9.1	100mg/ mL	0	0	0
EHP9 .2	500mg/ mL	10,6	9,7	8,7
Fluconazol	0,128µg/ mL	-	12,8	12,3
Clorexidina	0,12%	24,5	14	16,8
Álcool etílico	70%	0	0	0

-: Não testado para *S. mutans*. EHP1, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Ilha de São João Donato(1); EHP2, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Ilha de São João Donato(2); EHP3, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Palmeirândia/Cauaçu; EHP4, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Moxotó; EHP5, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Suturno (1); EHP6, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Fernando Falcão/Suturno (2); EHP7, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Embrapa/Belém; EHP8, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, São Francisco do Pará; EHP9, extrato hidroalcoólico de pólen de *Melipona fasciculata* Smith, Ilha das Onças.

Na avaliação palinológica identificou-se um total de cinquenta e quatro tipos polínicos, distribuídos em dezesse famílias, trinta e três gêneros e seis tipos não identificados (Tabela 5).

Tabela 5. Ocorrência e frequência dos tipos polínicos mais encontrados no pólen de *Melipona fasciculata* nos municípios de Palmeirândia e Fernando Falcão, no estado do Maranhão e de amostras do estado do Pará.

Amostras	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
Tipos polínicos								
Anarcadiaceae								
<i>Mangifera</i> sp.							O	
<i>Spondias</i> sp.								I
Arecaceae								
<i>Elaeis</i> sp.								A
tipo Arecaceae sp.1				A	O			
tipo Arecaceae sp.2		I						
tipo Arecaceae sp.3			I					
Asteraceae								
tipo Asteraceae sp.1				O				
tipo Asteraceae sp.2			I					
Clusiaceae								
<i>Vismia</i> SP					I			
Combretaceae								
<i>Combretum</i> sp.	I							
Cyperaceae								
<i>Cyperus</i> sp.		O						
tipo Cyperaceae							O	
Fabaceae								
<i>Centrosema</i> sp.						I		
<i>Chamaecrista</i> sp.1	O							
<i>Chamaecrista</i> sp.2								A
<i>Dioclea</i> sp.	I							
<i>Inga</i> sp.		O						
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	O	I						
<i>Mimosa pudica</i>	I	D						
<i>Mimosa</i> sp.1							O	
<i>Mimosa</i> sp.2							O	
<i>Scankia</i> sp.							O	
<i>Senna alata</i>	A							
<i>Senna</i> sp.1			O					
<i>Senna</i> sp.2						D		
<i>Tachigalia</i> sp.				O	O			

D = pólen dominante (>45%), A = pólen acessório (15 a 45%), I = pólen isolado importante (3 a 15%), O = pólen isolado ocasional (<3%). Amostras do município de Palmeirândia: P1, P2; Amostras do município de Fernando Falcão: P3, P4, P5 Amostras do estado do Pará: P6, P7, P8.

7. DISCUSSÃO

Na literatura são escassos os dados sobre os teores de fenólicos e flavonoides totais e ação antioxidante de pólen acumulado por abelhas sem ferrão, notadamente em espécies do gênero *Melipona*.

Os teores de fenólicos totais para os extratos hidroalcoólicos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith variaram entre 4,98 – 14,66% destacando o extrato EHP 9 com os maiores teores (Tabela 2). Os teores de flavonoides totais variaram entre 0,59 – 1,10%, com destaque para o EHP7 com os maiores teores (Tabela 2). Nota-se que houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras, tanto para os compostos fenólicos quanto para os flavonoides, com destaque ao EHP 9 que apresentou os melhores teores, exceto para os flavonoides.

Neves; Alencar e Carpes (2009) analisaram extratos etanólicos de pólen apícola oriundos do Nordeste e Sudeste do Brasil e encontraram variação de 6,9 mg a 13,78 mg para fenólicos e 3,46 mg a 6,87 mg para flavonoides, já Negri et al. (2011) para a mesma classe de compostos porém em amostras do Sudeste brasileiro os valores variaram de 1,6 a 2,3 mg.

Morais et al. (2011), utilizando extratos hidrometanólicos de pólen apícola em amostras oriundas de Portugal encontraram valores que variaram entre 10,5 mg e 16,8 mg EAG/g.

De modo geral, os diferentes teores de compostos fenólicos em amostras de pólen apícola entre os estudos mencionados, podem estar associados à sua característica botânica e origem geográfica da planta visitada pelas abelhas.

A legislação brasileira possui parâmetros de qualidade e identidade para o pólen apícola (BRASIL, 2001), mas para o pólen de abelhas sem ferrão não há legislação.

Sabe-se que os compostos fenólicos, especialmente, flavonoides podem contribuir diretamente com a atividade antioxidante, devido ao seu poder devido às suas propriedades redox, que lhes permitem atuar como agentes redutores, doadores de hidrogênio e oxigênio singlete (NEGRI et al., 2011).

As atividades antioxidantes dos extratos hidroalcoólicos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith foram avaliadas por dois ensaios químicos, 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e o ensaio da capacidade redutora de ferro (FRAP). Nos ensaios com DPPH a atividade antioxidante foi expressa em termos de IC₅₀, ou seja, a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% o DPPH inicial da reação no tempo em que o extrato atingiu a estabilidade. Quanto menor o seu valor, maior é a capacidade antioxidante *in vitro* dos extratos (KULISIC; DRAGOVIC-UZELAC; MILOS, 2006). Os extratos hidroalcoólicos de pólen também foram avaliados quanto a sua atividade antioxidante pelo método FRAP, que é o método da redução do ferro. Neste método avalia-se o potencial de um antioxidante em reduzir o Fe³⁺ em Fe²⁺ na presença de TPTZ, que em condições ácidas é acompanhada pela formação de um complexo azul intenso (RUFINO et al., 2006).

Entre os extratos, EHP 9 (1,27 mmol FeSO₄/g) reduziu maior quantidade de Fe³⁺ em Fe²⁺.

Os resultados indicaram que o EHP 9 possui atividade antioxidante, possuindo também os maiores teores de compostos fenólicos (14,66 mgEAG/g). Esses resultados sugerem que os compostos fenólicos presentes neste extrato estão relacionados à ação antioxidante.

Silva et al. (2006; 2009) demonstraram ação antioxidante (DPPH) em extratos de pólen de *Melipona subnitida* Drecke com EC₅₀ de 104,1 µg/mL para o extrato etanólico e IC₅₀ de 15,3 µg/mL para fração acetato de etila do respectivo extrato. O EHP9 (EC₅₀ de 70,73 µg/mL) apresentou maior ação antioxidante que pólen de *Melipona subnitida*.

Resultados na literatura com pólen apícola, mostram-se valores abaixo dos resultados de atividade antioxidante com pólen de *Melipona fasciculata* Smith, dentre esses trabalhos podemos citar Morais et al. (2011), que analisaram cinco amostras de pólen apícola (*Apis mellifera*) de diferentes parques naturais de Portugal onde os valores de IC₅₀ variaram de 2160 a 5870 µg/mL. Superiores também às amostras de pólen da Região Sul do Brasil, os valores de IC₅₀ variaram de 810 a 4690 µg/mL, com um valor médio de 1920 µg/mL, sendo que as amostras de pólen oriundas de União da Vitória-PR coletadas em 2007 apresentaram valor de IC₅₀ de 1180 a 4030 µg/mL (CARPES et al., 2008), Graikou et al. (2011) em extrato metanólico de pólen apícola grego encontrou valor IC₅₀ 181,4 µg/mL.

Dados de ação antioxidante (FRAP) de pólen apícola como de Leblanc et al. (2009) analisaram seis extratos etanólicos de pólen apícola dos Estados Unidos com valor médio de

1,53 mmol FeSO₄/g. Já Marghitas et al., (2009) ao avaliar doze extratos metanólicos de pólen apícola da Transilvânia, constataram valores de FRAP entre 0,255 a 5,355 mmol FeSO₄/g.

A atividade antioxidante dos polifenólicos está relacionada às suas propriedades redox, que pode desempenhar um papel importante na neutralização dos radicais livres (NIJVELDT et al., 2001). Estudos realizados por Almaraz-Abarca et al., (2004) e Morais et al. (2011) demonstraram que a composição de polifenóis de pólen pode ser um fator fundamental para sua qualidade.

Das duas amostras de pólen coletadas do município de Fernando Falcão - MA apenas o EHP5 foi eficiente contra *S. mutans* na concentração de 100mg/mL e, apesar da mesma origem da amostra EHP4, a coleta foi feita em localidades distintas do mesmo município e em épocas diferentes, o que sugere uma variação na composição química dessas amostras. Liberio et al., (2011) comprovou atividade antibacteriana em amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata*.

O extrato de pólen coletado em São Francisco do Pará - PA foi testado em concentrações que variaram de 100 mg/mL a 500 mg/mL com atividade antibacteriana apenas nessa última concentração (EHP 8.2). O EHP 9 (amostra de Ilha das Onças – PA), o halo aumentou à medida que se aumentou a concentração de 100mg/mL (EHP9.1) para 500mg/mL (EHP9.2), sugerindo uma provável atividade dose-dependente.

Esse extrato (EHP 9), por sua vez, foi o único com atividade antifúngica (*Candida albicans* e *Candida glabrata*) apenas na maior concentração e também apresentou os maiores halos dentre todos os extratos estudados. Vale ressaltar, que esse mesmo extrato, apresentou os melhores resultados para avaliação antioxidante e maiores teores de polifenóis totais, dessa forma, podendo, assim, a atividade antifúngica e antibacteriana, estar relacionada a essa classe de compostos.

Carpes et al., (2007), avaliaram a atividade antimicrobiana contra 9 microrganismos, incluindo entre eles *S. mutans*, não encontrou nenhuma atividade inibitória. Em contrapartida, Basim et al., (2006) ao avaliar atividade antimicrobiana do pólen da Turquia contra 13 microrganismos fitopatogênicos, encontrou zonas de inibição variando de acordo com a concentração de extrato polínico utilizado. Nessa pesquisa, *Agrobacterium tumefaciens* foi o mais sensível à concentração de 0,2% (m/v) e cada microrganismo se comportou de forma diferente, demonstrando que o efeito antimicrobiano do extrato de pólen

varia de acordo com a espécie avaliada. Ainda nessa avaliação, a concentração de 0,01 % não impediu o crescimento das cepas.

Arruda et al., (2013) testaram as propriedades biológicas do pólen apícola de *Cocus nucifera* e encontraram uma maior resistência de *Candida albicans* se comparada com *Staphylococcus epidermis*. Infecções por *Candida ssp* resistentes a antifúngicos do grupo dos azóis tem aumentado o que sugere o desenvolvimento de estratégias para o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos (CARPES et al., 2007).

Observamos que os perfis cromatográficos dos extratos de pólen são distintos entre os extratos, justificando a composição química dos mesmos está diretamente relacionada às espécies botânicas utilizadas pela abelha, considerando que as amostras de pólen são de ambientes ecologicamente diferentes.

Os constituintes químicos dos extratos de pólen foram identificados por CG/EM e estão descritos na Tabela 2, predominando os ácidos graxos, aminoácidos, ácidos fenólicos e açúcares são as classes de compostos químicos presentes nos extratos analisados. Presença de açúcares, aminoácidos e minerais foram descritos para o pólen de *Melipona subnitida* (SILVA et al., 2014). A presença de carboidratos, ácidos graxos e aminoácidos em pólen apícola são bem descrita (KAMOSINKA-VASSEC et al., 2015).

Considerando que as análises por CG/EM não evidenciaram os polifenóis presentes, os extratos foram analisados por LC/EM/EM, os quais foram tentativamente identificados, conforme tabela 3. Nos extratos EHP1, EHP2 e EHP3 de pólen provenientes dos municípios de Palmeirândia, no estado do Maranhão, identificaram-se os flavonoides canferol, isoramenetina, afzelina, quercetrina, cirsiol, derivados de cirsiol.

No extrato EHP4 com pólen proveniente do município de Fernando Falcão, no estado do Maranhão, foram identificados isoramenetina, quercetrina, tilirosídeo, ácido glucônico, glucitol. Nos extratos EHP5, EHP6 com pólen proveniente do estado do Pará, foram identificados isoramenetina-3-O-rutinosídeo, isoramenetina, canferol, hydroxyssaffor yellow A. As substâncias identificadas são flavonoides e flavonoides mono e diglicosilados. Ressalta-se que os flavonoides afzelina, cirsiol, tilirosídeo, hydroxyssaffor yellow A são flavonoides glicosilados, a luz do nosso conhecimento são reportados pela primeira vez no pólen de *Melipona fasciculata* Smith.

Isoramenetina e canferol são flavonoides já encontrados em pólen de *Melipona rufiventris* (SILVA et al., 2009). Compostos fenólicos encontrados nos extratos possuem

diferentes atividades biológicas como antioxidante, antiproliferativa, antibiótico, dentre outras (GRAIKOU et al., 2011; MEDEIROS et al., 2008), o que sugere possível bioatividade do pólen de *Melipona fasciculata* Smith.

A variabilidade dos constituintes químicos do pólen nos extratos analisados indicam a relação com as fontes vegetais utilizadas pela *Melipona fasciculata*, para coleta de resinas, que pode variar de acordo com os materiais vegetais disponíveis na região e necessidades da colméia. Dessa forma, na tentativa de identificar as espécies vegetais utilizadas pela *Melipona fasciculata* Smith foi realizada a avaliação palinológica das amostras de pólen.

Nas amostras, a família com maior representatividade foi Fabaceae, com quatorze tipos polínicos (*Centrosema* sp., *Chamaecrista* sp.1, *Chamaecrista* sp.2, *Dioclea* sp., *Inga* sp., *Mimosa caesalpinifolia*, *Mimosa pudica*, *Mimosa* sp.1, *Mimosa* sp.2, *Sckankia* sp., *Senna alata*, *Senna* sp.1, *Senna* sp.2, *Tachigalia* sp.). Myrtaceae, com nove tipos polínicos (*Eucalyptus* sp., *Eugenia* sp.1, *Eugenia* sp.2, *Eugenia* sp.3, *Eugenia* sp.4, *Eugenia* sp.5, *Myrcia* sp.1, *Myrcia* sp.2, *Syginium* sp.). As famílias Clusiaceae, Combretaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Malpighiaceae, Pontederiaceae foram representadas no espectro com um tipo polínico apenas.

Representatividade alta como pólen dominante (D, mais de 45% do total de grão de pólen contados) foi encontrada nas amostras de pólen de *Melipona fasciculata* para os tipos polínicos: *Mimosa pudica*, *Clidemia* sp. em Palmeirândia; *Senna* sp2 no Pará; *Eugenia* sp. em Moxotó; *Mouriri* em Fernando Falcão e Pará.

Como observado, as famílias botânicas mais representativas no que diz respeito ao número de tipos polínicos presentes nas amostras foram Fabaceae e Myrtaceae, duas famílias com grande riqueza de espécies na área do semiárido, e também com grande potencial meliponícola (SANTOS et al., 2005; SANTOS, 2006). Tipos polínicos relacionados ao gênero *Mimosa*, pertencentes à família Fabaceae, são importantes para a dieta de abelhas meliponícolas em áreas da caatinga. Muitos estudos indicam contribuição dessa família para produtos meliponícolas no Brasil (CARVALHO et al., 2001; ALVES et al., 2006; NOVAIS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010).

A preferência de espécies de *Melipona* na busca de recursos poliníferos em espécies das famílias Arecaceae, Myrtaceae, Melastomataceae e Solanaceae é reconhecida (CARVALHO et al, 2001; LUZ et al., 2011), o que corrobora com os nossos estudos, uma

vez que tipos polínicos pertencentes a essas famílias foram encontrados em amostras de pólen de regiões e estados diferentes.

Nas amostras de pólen foram observadas tipos polínicos característicos de mata atlântica (*Myrcia*), vegetação espontânea de áreas campestres (*Hyptis*, *Mimosa pudica*), plantas de áreas úmidas e alagadas (*Pontederia* sp., *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Mouriri*), cultivo (*Eucalyptus*) (PEIXOTO et al., 2004; MENEZES et al., 2005; AFONSO et al., 2007).

Mimosa pudica é planta polinífera que ocorre por todo o Brasil cujo pólen é coletado pelas abelhas (DÓREA et al., 2010), aparecendo também no mel (BARTH, 2004; MARTINS et al., 2011). MARTINS et al. (2011) identificou que o tipo polínico *Mimosa pudica* dominou no mel de *Melipona fasciculata* coletado do município de Palmeirândia. Estudos fitoquímicos com *Mimosa pudica* revelam a presença de flavonoides glicosilados, terpenos, ácidos graxos e mimosine um raro aminoácido não proteico (NAIR et al., 2007; AHMAD et al., 2012).

8. CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que os extratos hidroalcoólicos de pólen de *Melipona fasciculata* Smith provenientes do Maranhão e Pará, apresentaram atividade antioxidante, a qual pode estar relacionada com os teores de polifenólicos encontrados nesses extratos. Além da atividade antioxidante, os extratos foram avaliados quanto a atividade microbiológica e ficou constatada atividades antifúngica e antibacteriana.

O pólen de *Melipona fasciculata* Smith por ácidos graxos, ácidos orgânicos, ácidos fenólicos, açúcares, aminoácidos, flavonoides, flavonoides glicosilados. Ressalta-se pela primeira vez a presença de cirsiol, afzelina, tilirosídeo, hydroxisaffor yellow e isoramnetina 3-O-rutinosídeo em pólen de *Melipona fasciculata*.

A variabilidade química nos extratos está relacionada com as fontes vegetais utilizadas pela abelha *Melipona fasciculata* para coleta de resinas, que pode variar de acordo com o material vegetal disponível na região e necessidades da colméia. A avaliação botânica palinológica do pólen demonstrou o pólen dominante de *Mimosa pudica*, espécies de *Senna* e *Mouriri*, esses resultados sugerem um comportamento de forragem específico exibido pela abelha *Melipona fasciculata*, mesmo em ambientes ricos em diversidade vegetal no estado Maranhão e do Pará.

Os resultados obtidos demonstram ação antioxidante e antimicrobiana e que as substâncias fenólicas podem estar relacionadas a essas atividades. Os dados podem contribuir como parâmetros químicos e biológicos de fixação de identidade e qualidade do pólen acumulado por *Melipona fasciculata* cultivadas nos municípios Palmeirândia, Fernando Falcão no estado do Maranhão e Pará, contribuindo para futura legislação de produtos de abelhas sem ferrão, considerando que a falta de legislação limita o aproveitamento de produtos meliponícolas.

Os dados químicos e biológicos podem contribuir para produção comercial de produtos de uso alimentar e farmacêutico de pólen de *Melipona fasciculata*.

REFERÊNCIAS

ABREU, B. V. B.; DUTRA, R. P.; BATISTA, M. C. A.; AZEVEDO, C. C.; NOGUEIRA, A. M. C.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S. Polifenóis de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith coletado no Cerrado maranhense. **Revista de Ciências da Saúde**, 8, 1, 18-24, 2006.

AFONSO, A. S.; MEDEIROS, A. S.; NUNES, C. S.; RODRIGUES, G. A.; NUNES, R. S.; TAVARES, L. F. M.; CONDE, M. M. S. Florística da vegetação arbustiva aberta na Restinga da Marambaia, RJ. **Revista Brasileira de Biociências**, 5, 450 - 452, 2007.

AIDAR, D. S. **A Mandaçaia: biologia manejo e multiplicação de colônias de abelhas, com especial referencia a *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. 2. ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 161 p., 2010.

ALBUQUERQUE, P. M. C.; GOSTINSKI, L. F.; RÊGO, M. M. C.; CARREIRA, L. M. M. **Flores e abelhas: a interação da tiúba (*Melipona fasciculata*, Meliponini) com suas fontes florais na Baixada Maranhense**, 164, 2013.

ALMARAZ-ABARCA, M. D. G.; CAMPOS, J. A.; AVILA-REYES, N.; NARANJO-JIMENEZ, HERRERA, C. J.; GONZ´ALEZ-VALDEZ , L. S. Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin, **Interciencia**, 29, 10, 574–578, 2004.

ALMEIDA, A. V. Insetos brasileiros comentados pelos cronistas coloniais: séculos XVI e XVII. *Sitientibus: Série Ciências Biológicas*, Feira de Santana, 7, 113-124, 2007.

ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; MATSUDA, A. H.; BASTOS, D. H.M. Physicochemical parameters of amazon *Melipona* honey. **Química Nova**, 30, 707-708, 2007.

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

ALVES, R. M. O.; SOUZA, B. A.; SODRE, G. S.; FONSECA, A. A. O. Desumidificação: uma alternativa para a conservação do mel de abelhas sem ferrão. **Mensagem Doce**, 91, 2-8, 2006.

ALVES, R.; M.; O.; CARVALHO, C.; A.; L.; SOUZA, B. ALMEIDA. Espectro polínico de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith, 1863 (Hymenoptera: Apidae), **Maringá**, 28, 1, 65-70, 2006a.

ALVES, R. M. O.; CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A. Espectro polínico de amostras de mel de *Melipona mandacaia* Smith, 1863 (Hymenoptera: Apidae). **Acta Scientiarum Biological Sciences** 28, 65-70 2006.

AHMAD, H.; SEHGAL, S.; GUPTA, R. *Mimosa pudica* L. (Laajvanti): An overview **Pharmacognosy Reviews** 6, 12, 115-124, 2012.

ANDRADE, P.; FERRERES, F.; GIL, M. I.; FRANCISCO, A.; BARBERAN, T. Determination of phenolic compounds in honey with different floral origin by capillary zone electrophoresis, **Food Chemistry**, 60, 1, 79-84, 1997.

ARAÚJO, J. S.; GARCIA, R. C.; LEVISTKI, I. C.; HEINZEN, E. L.; POLESE, C. Incentivo a utilização da própolis como alternativa de controle de verminose em ovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 3, Florianópolis. **Anais...** Santa Catarina, CD-ROM, 2006.

ARAÚJO, M. J. A. M.; DUTRA, R. P.; COSTA, G. C.; REIS, A. R.; ASSUNÇÃO, A. K. M.; LIBERIO, S. A.; MACIEL, M. C. G.; SILVA, L. A.; GUERRA, R. N. M.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F. Efeito do tratamento com própolis de *Scaptrotigona* aff. *postica* sobre o desenvolvimento do tumor de Erlich em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20, 2, 580-587, 2010.

ARAÚJO, M. J. A. M.; MATAR, N. S.; REIS, A. S.; SERRA, I. C. P. B.; FIALHO, E. M. S.; ASSUNÇÃO, A. K. M.; DUTRA, R. P.; NOGUEIRA, A. M. C.; LIBERIO, S. A.; GUERRA, R. N. M.; LOPES, A. S.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F. Pharmacognostic and

acute toxicological evaluation of *Scaptotrigona aff postica* propolis extract in pre-clinical assays. **Natural Product Research**, 1-10, 2011.

ARAÚJO, K. S. D. S.; SANTOS JÚNIOR, J. F. D.; SATO, M. O.; FINCO, F. D. B. A.; SOARES, I. M., BARBOSA, R. D. S.; ALVIM, T. C.; ASCÊNCIO, S. D.; MARIANO, S. M. B. Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and Apis from two regions of Tocantins, Brazil. **Acta Amazonica**, 46, 1, 61-68, 2016.

ARRUDA, V. A. S. **Pólen apícola desidratado: composição físico-química, qualidade microbiológica, compostos fenólicos e flavonoides, atividade antioxidante e origem botânica**. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, 2013.

ARRUDA, V. A. S.; PEREIRA, A. A. S.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, 29, 100-105, 2013.

ARAÚJO, M. J. A. M., BÚFALO, M. C., CONTI, B. J., FERNANDES JUNIOR, A., TRUSHEVA, B., BANKOVA, V., SFORCIN, J.M. The chemical composition and pharmacological activities of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in Northeast Brazil. **Journal of Molecular Pathophysiology**, 4, 1, 12-20, 2015.

ASSUNÇÃO, A. K. M. **Efeito antitumoral do tratamento com extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith em modelo experimental de tumor de Ehrlich**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

AYRES, D. C.; MARCUCCI, M. C.; GIOGIO, S. Effects of brazilian propolis on *Leishmania amazonensis*. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, 102, 2, 215-220, 2007.

BANKOVA, V. Recent trends and important developments in propolis research. Evidence Based Complementary and Alternative. **Medicine**, 2, 29-32, 2005.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis makes it a valuable source of new biologically active compounds. **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, 1, 23–28, 2009.

BANKOVA, V; POPOVA, M. Propolis of stingless bees: a promising source of biologically active compounds. **Pharmacognosy Reviews**, 1, 1, 88-92, 2007.

BANKOVA, V; POPOVA, M.; TRUSHEVA, B. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. **Chemistry Central Journal**, 48, 28, 1-8, 2014.

BARRETO L. M.; ORSI, R. C.; OLIVEIRA, R.; NEGRÃO, A. F. Pólen apícola: tendências na produção e diversificação do produto. **Magistra**. Cruz das Almas, 23, 1 – 12, 2011.

BARRETO, L. M. R. C.; FUNARI, S. R. C.; ORSI, R. O. **Pólen apícola: Perfil de produção no Brasil**. Universidade de Taubaté; Universidade Estadual Paulista – Campus de Botucatu, 100p., 2006.

BARTH, O. M. Pollen analysis of Brazilian própolis, **Grana**, 37, 97-101, 1998.

BARTH, O. M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, 61, 342-350, 2004.

BARTH, O. M.; LUZ, C. F. P. Palynological analysis of Brazilian geoprópolis sediments, **Grana**, 42, 2, 121 – 127, 2003.

BARTOLOMEU, A. R.; FRIÓN-HERRERA, Y.; DA SILVA, L. M.; ROMAGNOLI, G. G.; DE OLIVEIRA, D. E.; SFORCIN, J. M. Combinatorial effects of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith with anticancer drugs against human laryngeal epidermoid carcinoma (HEp-2) cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 81, 48-55, 2016.

BASIM, E.; BASIM, H.; OZCAN, M. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. **Journal of Food Engineering**, 77, 4, 992-996, 2006.

BATISTA, M. C. A. **Composição química e atividade antioxidante de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith do município de palmeirândia, Maranhão, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

BATISTA, M. C. A.; ABREU, B. V. B.; DUTRA, R. P.; CUNHA, M. S.; AMARAL, F. M. M.; TORRES, L. M. B.; RIBEIRO, M. N. S. Chemical composition and antioxidant activity of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in áreas of flooded fields and cerrado in Maranhao State, northeast Brazil. **Acta Amazonica**, 1-28, 2016.

BAZLEN, K. **Charakterisierung Von Honigen stachelloser Bienen aus Brasilien.** 2000, 141 p., Thesis (Thesis-Doktor) – Eberhard-Karl Universitat, Tübingen, 2000.

BERETTA, G.; GRANATA, P.; FERRERO, M.; ORIOLI, M.; FACINO, R. M. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics, **Analytica Chimica Acta**, 553, 2, 185-190, 2005.

BERTONCELJ, J.; DOBERSEK, U.; JAMNIK, M.; GOLOB, T. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey, **Food Chemistry**, 105, 2, 822-828, 2007.

BERTONCELJ, J.; GOLOB, T.; KLOPF, U.; KOROSEK, M. Characterization of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach. **International Journal of Food Science & Technology**, 46, 1661-1671, 2011.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239, 70–76, 1996.

BEZERRA, A. M. F; FARIAS, M. C. A. D.; BEZERRA, K. K. S. B.; FILHO, A. F.; CASIMIRO, G. S.; PEREIRA, R. S. M.; NUNES, E. M.; CAVALCANTE, J. C. B.; SILVA,

E. M. L.; BRASILINO, I. M. V.; ABRANTES, K. S. M.; ABREU, L.C.; MARACAJÁ, P.B.; ARAÚJO, A.S.; SILVA, R. A. Action of propolis on microorganisms of the oral cavity: an integrative review. **International Archives of Medicine**, 8, 118, 1-18, 2015.

BEZERRA, M. D. B. Beekeeping, an essential activity to the household economy of the humid tropics, p. 144-203. In: Moura, E.G. de (Org.) **Agro environments of transition: from the humid tropics and semi-arido**. UEMA. 300 p, 2002.

BOGDANOV, S. Quality and standards of pollen and beeswax. **Apiacta**, 38, 334- 341, 2004.

BOGDANOV, S.; JURENDIC, T.; SIEBER, R.; GALLMANN, P. Honey for Nutrition and Health: A Review. **Journal of the American College of Nutrition**, 27, 6, 677-689, 2008.

BOORN, K. L.; KHOR, Y. Y.; SWEETMAN, E.; TAN, F.; HEARD, T. A.; HAMMER, K. A. Antimicrobial activity of honey from the stingless bee *Trigona carbonaria* determined by agar diffusion, agar dilution, broth microdilution and time-kill methodology. **Journal of Applied Microbiology**, 108, 1534–1543, 2010.

BORGES, K. S.; BRASSESCO, M. S.; SCRIDELI, C. A.; SOARES, A. E. E.; TONE, L. G. Antiproliferative effects of Tubi-bee propolis in glioblastoma cell lines. **Genetic and Molecular Biology**, 34, 2, 310-314, 2011.

BORRELLI, F.; MAFFIA, P.; PINTO, L.; IANARO, A.; RUSSO, A.; CAPASSO, F.; IALENTI, A. Phytochemical compounds involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. **Fitoterapia**, 73, 53-63, 2002.

BOYE, N. P. Immunotherapy of tree pollen allergy with a modified alginate conjugated birch pollen extract compared to an alluminium adsorbed extract. **Allergy**, 45, 4, 241, 1990.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER, M. E.; BERST, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebens Wissen Technol**. 28, 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério das Minas e Energia. Departamento Nacional de Produção Mineral. Projeto Radambrasil. Brasília: v. 5, 1974.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel**. MAPA, Brasília, 2000.

BRASIL. **Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 janeiro de 2001**. Dispõe sobre Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 28 dez. de 2011.

BROSI, B. J. The complex responses of social stingless bees (Apidae: Meliponini) to tropical deforestation. **Forest Ecology and Management**, 258, 9, 1830-1837, 2009.

CABRERA, C.; MONTENEGRO, G. Pathogen control using a natural Chilean bee pollen extract of known botanical origin. **Ciencia e Investigacion Agraria**, 40, 1, 223-230, 2013.

CAMARGO, R. C. R.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; WOLFF, L. F. **Mel: Características e propriedades**. Documentos, 150. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 28, 2006.

CAMARGO, J. M. F & PEDRO, S. R. M. *Meliponini* Lepeletier, 1836. In J.S. Moure; D. Urban & G.A.R. Melo (Orgs.), **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**, Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia, p. 272-578), 2007.

CAMARGO, J. M. F & PEDRO, S. R. M. Notas sobre a bionomia de *Trichotrigona extranea* Camargo & Moure (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Entomologia**, 51, 72-81, 2007a.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. 2013. **Meliponini Lepeletier, 1836**. In Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version. Disponível em: <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Acessado em: 10/04/2016.

CAMPOS, M; MARKHAM, K. R; MITCHELL, K. A; DA CUNHA, A. P, An approach to the characterization of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles. **Phytochemical Analysis**, 8, 181-185, 1997.

CAMPOS, M. G. R.; FRIGERIO, C.; LOPES, J.; BOGDANOV, S. What is the future of Bee-Pollen, **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science**, 2, 4, 131 – 144, 2010.

CAMPOS, J. F.; SANTOS, U. P; MACORINI, L. F. B.; MELO, A. M. M. F; JOSÉ BALESTIERI, B. P.; PAREDES-GAMERO, E. J.; CARDOSO, C. A. L; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (Hymenoptera, Apidae). **Food and Chemical Toxicology**, 65, 374–380, 2014.

CAMPOS, M. G.; WEBBY, R. F.; MARKHAM, K. R.; MITCHELL, K. A.; DA CUNHA, A. P. Aged induced diminution of free radicals scavenging capacity in bee-pollens and the contribution of constituents flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 742–745, 2003.

CANTANHEDE, D. C.; MASCENA, Z. U.; BEZERRA, J. L.; DUTRA, R. P.; COUTINHO, D. F.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S. Bioatividade de *Artemia salina* em extratos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, 5, 1-2, 15, 2007.

CARDOZO, D. V.; MOKOCHINSKI, J. B.; SCHINEIDER, C. M.; SAWAYA, A. C. H. F.; CAETANO, I. K.; FELSNER, M. L.; TORRES, Y. R. Variabilidade Química de Geoprópolis Produzida pelas Abelhas sem Ferrão Jataí, Mandaçaia e Mandurí. **Revista Virtual de Química**, 7, 6, 2456-2474, 2015.

CARPES, T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* da região Sul do Brasil**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CARPES, S. T. P. A.; MORENO, I. A. M.; MOURÃO, G. B.; ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região sul do Brasil. **Química Nova**, 31, 1660-1664, 2008.

CARPES, T.; BEGNINI, R.; MATIAS de ALENCAR, S.; MASSON, M. L. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. **Ciencia e Agrotecnologia**, 31, 1818–1825, 2007.

CARVALHO, C. A. L.; MORETI, A. C. C. C.; MARCHINI, L. C.; ALVES, R. M. O.; OLIVEIRA, P. C. F. Pollen spectrum of honey of “uruçu” bee (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811), **Revista Brasileira de Biologia**, 61, 63-67, 2001.

CARVALHO, G. C. A.; RIBEIRO, M. H. M.; ARAUJO, A. C. A. M.; OLIVEIRA, F.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Floristic composition used by *Melipona fasciculata* Smith, 1854 (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in Amazon Rainforest: tool for meliponicultures in region Maranhão lowland, Brazil. **Oecologia australis**, 20, 58-68, 2016.

CASTAGNARA, D. D.; BUSARELLO, J. J.; ARAÚJO, J. S.; LEVISTKI, M. A.; DREIER, L.; Utilização da própolis no controle de parasitas gastrointestinais em ovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 17., Londrina. **Anais...** Paraná, CD-ROM, 2007.

CASTALDO, S.; CAPASSO, F.; Propolis an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, 73, 1, 1-6, 2002.

CHENG, N.; REN, N.; LEI, X.; ZHENG, J.; CAO, W. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Schisandra chinensis* pollen extract on CCl₄-induced acute liver damage in mice. **Food and Chemical Toxicology**, 55, 234-240, 2013.

CINEGAGLIA, N. C.; BERSANO, P. R. O.; ARAÚJO, M. J. A. M.; BÚFALO, M. C.; SFORCIN, J. M. Anticancer effects of geopropolis produced by stingless bees on canine osteosarcoma cells *in Vitro*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013, 1-6, 2013.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE/NCCLS. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement**. CLSI/NCCLS document M 100-S15. Wayne, PA, 2007.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Norma regional europea para miel.** CAC/RS 12-2001. ROMA: FAO; OMS, 7p, 2001.

COLETTO-SILVA, A. **Implicações na implantação da meliponicultura e etnobiologia de abelhas sem ferrão em três comunidades indígenas no estado do Amazonas.** Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal do Amazonas, 2005.

CONCEIÇÃO, P. J, **Levantamento florístico e perfil botânico do pólen (samburá) da abelha *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae) da Região Semiárida, Estado da Bahia.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas . Cruz das Almas, BA, 2013.

COOPER, R. A.; MOLAN, P. C.; HARDING, K. G. Antibacterial activity of honey against of *Staphylococcus aureus* from infected wounds, **Journal of the Royal Society of Medicine**, 92, 283-285, 1999.

COROTPASSI-LAURINO, M.; IPERATRIZ-FONSECA, V. L.; ROUBIK, D. W.; DOLLIN, A.; HEARD, T.; AGUIAR, I.; VENTURIERI, G. C.; NOGUEIRA-NETO, P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, 37, 275-292, 2006.

CORONEL, B. B.; GRASSO, S. C.; PEREIRA, G.; FERNÁNDEZ, A. Caracterización bromatológica del pólen apícola Argentino. **Ciência, Docência y Tecnologia**, 15, 29, 141-181, 2004.

COSTA-NETO, E. M. Folk taxonomy and cultural significance of "abelá" (Insecta, Hymenoptera) to the pankarare, Northeastern Bahia State, Brazil. **Journal of Ethnobiology**, 18, 1, 1-13, 1998.

COSTA, P. S. C.; OLIVEIRA, J. S. **Manual prático de criação de abelhas.** Viçosa: Aprenda Fácil, 2005. 424p.

CUNHA, M. S.; DUTRA, R. P.; BATISTA, M. C. A.; ABREU, B. V. B.; SANTOS, J. R.; NEIVA, V. A. N.; AMARAL, F. M. M.; RIBEIRO, M. N. S. Padronização de extrativos de

geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba). **Cadernos de Pesquisa**, 16, 3, 31-38, 2009.

CUNHA, M. S. **Bioprospeção antitumoral da geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith**. 2013.63f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

CUNHA, M. G.; FRANCHIN, M.; GALVÃO, L. C. C.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; IKEGAKI, M., ALENCAR, S. M.; KOO, H.; ROSALEN, P. L. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geopropolis. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 2013,13-23, 2013.

DÓREA, M. C.; NOVAIS, J. C.; SANTOS, F. A. R. Botanical profile of bee pollen from the southern coastal region of Bahia, Brazil. **Acta Botânica Brasílica**, 24, 3, 862-867, 2010.

DUAILIBE, S. A. C.; GONÇALVES, A. G.; AHID, F. J. M. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts *in vivo*. **Journal of Applied Oral Science**, 15, 5, 420- 423, 2007.

DUTRA, R. P. **Bioprospeção da geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith como insumo na geração de produtos leishmanicidas**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2012.

DUTRA, R. P; GUERRA, R. N. M; RIBEIRO, M. N. S. **Processo de obtenção, formulação de extratos padronizados, fração e substâncias isoladas da geoprópolis brasileira como agente leishmanicida**. Br n. PI 1103291-0, 05/07/2011.

DUTRA, R. P.; NOGUEIRA, A. M. C.; MARQUES, R. R. O.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da Baixada maranhense, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18, 4, 557-562, 2008.

DUTRA, R. P.; ABREU, B. V. B; CUNHA, M. S; BATISTA, M. C. A; TORRES, L. M. B; NASCIMENTO, F. R. F; RIBEIRO. M. N. S.; GUERRA, R.N.M. Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62, 2549–2557, 2014.

EFEM, S. E. E.; UDOH, K. T.; IWARA, C. I. The antimicrobial spectrum of honey and its clinical significance. **Infection** , 20, 227-229, 1992.

ERDTMAN, G. The acetolysis method. **Svensk Botanisk Tidskrift**, 54, 561 - 564, 1960.

FALCHETTI A. M.; NATES PARRA, G, **Las hijas del sol. Las abejas sin aguijón en el mundo UWA, Sierra Nevada del Cocuy, Colombia**. In: En Rostros culturales de la fauna. Las relaciones entre los humanos y los animales en el contexto colombiano. Edited by: Ulloa A. Colombia: Instituto Colombiano de Antropología e Historia, 175-214, 2002.

FARNESI, A. P.; AQUINO-FERREIRA, R.; JONG, D. D.; BASTOS, J. K.; SOARES, A. E. E. Effects of stingless bee and honey bee propolis on four species of bacteria. **Genetics and Molecular Research**, 8, 2, 635-640, 2009.

FEÁS, X.; VÁZQUEZ-TATO, M. P.; ESTEVINHO, L.; S EIJAS, J. A.; IGLESIAS, A. Organic bee pollen: Bioactive compounds, antioxidante activity and microbiological quality. **Molecules**, 17, 8359-8377, 2012.

FERREIRA, I. C. F. R.; AIRES, E.; BARREIRA, J. C. M.; ESTEVINHO, L. M. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contribution of the entire honey and phenolic extract. **Food Chemistry**, 114, 4, 1438-1443, 2009.

FERREIRA-CALIMAN, M. J.; SILVA, C. I.; MATEUS, S.; ZUCCHI, R.; NASCIMENTO, F. S, Neutral Sterols of Cephalic Glands of Stingless Bees and Their Correlation with Sterols from Pollen. **Psyche**, 7, 2012.

FERRO, V. A.; BRADBURY, F.; CAMERON, P.; SHAKIR, E.; RAHMAN, S. R.; STIMSON, W. H. In vitro susceptibilities of *Shigella flexneri* and *Streptococcus pyogenes* to inner gel of *Aloe barbadensis* Miller. **Antimicrob Agents Chemother**, 47, 3, 1137-1139, 2003.

FRANCHIN, M.; CUNHA, M. G.; DENNY, C.; NAPIMOGA, M. H.; CUNHA, T. M.; KOO, H.; ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Geopropolis from *Melipona*

scutellaris decreases the mechanical inflammatory hypernociception by inhibiting the production of IL-1 β and TNF- α . **Journal of Ethnopharmacology**, 143, 709–715, 2012.

FRAZÃO, R.; SILVEIRA, O. T. Levantamento preliminar das abelhas sem ferrão das ressacas de Macapá e Santana para um aproveitamento sustentável (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). In. Luis Roberto Takiyama; Arnaldo de Queiroz da Silva. **Diagnóstico de ressacas do estado do Amapá: Bacias do igarapé da Fortaleza e do rio Curiaú**. 21 ed. Macapá, AP: JM Editora Gráfica, 1, 249-255, 2004.

FREIRE, K. R. L.; LINS, A. C. S.; DÓREA, M. C.; SANTOS, F. A. R.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Palynological origin, phenolic content, and antioxidant properties of honeybee-collected pollen from Bahia, Brazil. **Molecules**, 17, 1652-1664, 2012.

FREITAS, B. M. **Meliponíneos. A vida das abelhas**. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil, CD-ROM. 2003.

FUNARI, S. R. C.; ROCHA, H. C.; SFORCIN, J. M.; FILHO, H. G.; CURI, P. R.; GOMES, S. M. A.; FUNARI, A. R. M.; OLIVEIRA, O. R. Composições bromatológicas e mineral de polens coletados por abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) em Botucatu, Estado de São Paulo. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, 11, 2, 88-93, 2003.

GARCÍA, M.; PÉREZ-ARQUILLUE, C.; JUAN, T.; JUAN, M. I.; HERRERA, A. Note: pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys. **Food Science Technology International**, 7, 2, 155-158, 2001.

GAREDEW, A.; SHMOLZ.; LAMPRECHET, I. Effect of bee glue on the calorimetrically measured heat production rate and metamorphosis of the greater wax moth *Galleria mellonella*. **Acta Thermochim**, 413, 63-72, 2004.

GEBARA, E. C. E.; LIMA, L. A.; MAYER, M. P. A. Propolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria. **Brazilian Journal Microbiology**, 33, 4, 365-369, 2002.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Atividade antimicrobiana do mel da abelha nativa sem ferrão *Nannotrigona testaceicornis* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). **Arquivos do Instituto Biológico**, 72, 455-459, 2005.

GRAIKOU, K.; KAPETA, S.; ALIGIANNIS, N.; SOTIROUDIS, G.; CHONDROGIANNI, N.; GONOS, E.; CHINO, I. Chemical analysis of Greek pollen - Antioxidant, antimicrobial and proteasome activation properties. **Chemistry Central Journal**, 33, 5, 1-9, 2011.

GUERRINI, A.; BRUNI, R.; MAIETTI, S.; POLI, F.; ROSSI, D.; PAGANETTO, G.; SACCHETTI, G. Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. **Food Chemistry**, 1413-1420, 2009.

GUPTA, S. K.; SINCH, H.; VARSHNEY, A. C.; PRAKASH, P.; SING, S. P. Biochemical alterations during wound healing under influence of natural honey and ampicillin in buffaloes. **Journal Indian Veterinary**, 70, 45-47, 1993.

HANSEN, M. **The healing power of pollen and other products from the beehive, propolis, royal jelly, honey**. Wellingborough: Thorsons publishers Ltd., p. 65, 1979.

HEINZEN, E. L.; PEIXOTO, E. C. T. de M.; JARDIM, J. G.; GARCIA, R. C.; OLIVEIRA, N. T. E.; ORSI, R. de O. Extrato de própolis no controle de helmintoses em bezerros. **Acta Veterinaria Brasilica**, 6, 40-44, 2012.

IRISH, J.; CARTER, D. A.; BLAIR, S.E.; HEARD, T. A. Antibacterial activity of honey from the Australian stingless bee *Trigona carbonaria*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 32, 89-90, 2008.

JUZWIAK, S. Experimental evaluation of the effect of pollen extract on the course of paracetamol poisoning. **Annales Academiae Medicae Stetinensis**, 49, 57-69, 1993.

KAMOSINSKA-VASSEV.; PAWEL, O.; JUSTYNA, K.; LUKASZ, M.; KRYSZYNA, O. Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 6, 2015.

KROYER, G.; HEGEDUS, N, Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement, **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 2, 3, 171–174, 2001.

KERR, W. E. Abelhas indígenas brasileiras (Meliponíneos) na polinização e na produção de mel, pólen, geoprópolis e cera. **Informe Agropecuário**. 13, 149, 15-22, 1987.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; COLETTI-SILVA, A.; ASSIS, M. G. P. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Biodiversidade, Pesquisa e Desenvolvimento na Amazônia. Parcerias Estratégicas**, 12, 20-41, 2001.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **A abelha urucu**: biologia, manejo e conservação. Belo Horizonte: Acangaú. 144p, 1996.

KRELL, R. Value-added products from beekeeping. **FAO Agricultural Services Bulletin**, 124, 87-113, 1996.

HEINZEN, E. L.; PEIXOTO, E. C. T. de M.; JARDIM, J. G.; GARCIA, R. C.; OLIVEIRA, N. T. E.; ORSI, R. de O. Extrato de própolis no controle de helmintoses em bezerros. **Acta Veterinaria Brasilica**, 6, 40-44, 2012.

IURLINA, M. O.; SAIZ, A. L.; FRITZ, L.; MANRIQUE, G. D. Major flavonoids of Argentinean honeys. Optimisation of the extraction method and analysis of their content in relationship to the geographical source of honeys. **Food Chemistry**, 115, 3, 1141-1149, 2009.

KULISIC, T.; DRAGOVIC-UZELAC, V.; MILOS, M. Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from oregano, thyme and wild thyme. **Food Technology and Biotechnology**, 44, 4, 485–492, 2006.

LEBLANC, B. W.; DAVIS, O. K.; BOUE, S.; DELUCCA, A.; DEEBY, T. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. **Food Chemistry**, 115, 1299–1305, 2009.

LÉON-RUIZ, V. Vitamin C and sugar levels as simples markers for discriminating Spanish honey sources. **Journal of Food Science**, 76, 356-361, 2011.

LIBÉRIO, S. A. **Efeitos da geoprópolis de *Melipona fasciculata* sobre a microbiota cariogênita: prospecção de um produto.** Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, 2010.

LIBERIO, S. A. ; PEREIRA, A. L. A.; DUTRA, R. P.; REIS, A. S.; ARAÚJO, M. J. A. M.; MATTAR, N. S.; SILVA, L. A.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F.; GUERRA, R. N. M.; MONTEIRO-NETO, V. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 11, 1-10, 2011.

LINS, A. C. S., SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA, E. M. S.; FREITAS, B. M. Flavonóides isolados do pólen coletado pela *Scaptotrigona bipunctata* (canudo). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 13, 2, 40-41, 2003.

LOPES, M.; FERREIRA, J. B.; SANTOS, G. Abelhas sem-ferrão: a biodiversidade invisível. **Agriculturas**, 2, 7-9, 2005.

LOUREIRO, C. M. B. **Redução de verminoses, parâmetros hematológicos e bioquímicos de cordeiros alimentados com extrato de própolis na ração.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, São Paulo, 2007.

LUZ, C. F. P.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M.; LAGE, L. G. A.; RESENDE, H. C.; TAVARES, M. G.; CAMPOS, L. A. O. Pollen sources for *Melipona capixaba* Moure & Camargo: An endangered Brazilian stingless bee. **Psyche**, 1-7, 2011.

LYNGHEIM, L.; SCAGNETTI, J. **Bee pollen: natures miracle health food.** Holllywood: iltshire Book Company, 1979.

MACÊDO, L. M. **Propriedades prebióticas e antimicrobianas de mel de abelhas.** 2007, 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Tecnologia, Rio de Janeiro, 2007.

MACHADO, J. O. Simbiose entre as abelhas sociais brasileiras (Meliponinae, Apidae) e uma espécie de bactéria. **Ciência e Cultura**, 23, 5, 625-633, 1971.

MACHADO, G. M. C; LEON, L. L; CASTRO, S. L. Activity of brazilian and bulgarian propolis against different species of Leishmania. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**. 102, 1, 73-77, 2007.

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, 19, 5, 529-535, 1996.

MĂRGHITAS, L. A.; STANCIU, O. G.; DEZMIREAN, D. S.; BOBIȘ, O.; POPESCU, O.; BOGDANOV, S.; CAMPOS, M. G. In vitro antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. **Food Chemistry**, 115, 878-883, 2009.

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

MARTINS, A. C. L.; RÊGO, M. M. C.; CARREIRA, L.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Espectro polínico do mel de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidae). **Acta Amazônica**, 41, 2, 183 - 190, 2011.

MARUYAMA, H, SAKAMOTO, T, ARAKI, Y AND HARA, H. Anti-inflammatory effect of bee pollen ethanol extract from *Cistus* sp. of Spanish on carrageenan-induced rat hind paw edema. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 30, 10, 1-10, 2010.

MEDEIROS, K. C. P.; FIGUEIREDO, C. A. V.; FIGUEREDO, T. B.; FREIRE, K. R. L.; SANTOS, F. A. R.; ALCANTARA, N. N. M.; SILVA, T. M. S.; PIUVEZAM, M. R. Anti-allergic effect of bee pollen phenolic extract and myricetin in ovalbumin-sensitized mice, *Journal Ethnopharmacology*, 119, 41–46, 2008.

MENEZES, L. F. T.; ARAÚJO, D. S. D. Formações vegetais da restinga da Marambaia, Rio de Janeiro. In **História Natural da Marambaia** (L.F.T. Menezes, A.L. Peixoto & D.S.D. Araujo, orgs.). Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005.

MICHENER, C. D. **The Social Behavior of the Bees – A Comparative Study**. Cambridge: Harvard University Press, 404 p. 1974.

MICHENER, C. D. **Bees of the world**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. 913 p, 2000.

MIORIN, P. L.; LEVY JUNIOR, N. C.; CUSTODIO, A. R.; BRETZ, W. A.; MARCUCCI, M. C. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, 95, 913-920, 2003.

MOLAN, P. C. The antibacterial activity of honey. The nature of the antibacterial activity, **Bee world**, 73, 5-28, 1992.

MOLAN, P. C. Mode of action. In: White, R., Cooper, R. Molan, P. Honey: a Modern Wound Management Product. **Wounds UK Publications**, 2005.

MORAIS, M.; MOREIRA, L.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. **Food and Chemical Toxicology**, 49, 5, 1096-101, 2011.

MOURA, L. P. P., SCAPINELLO, C.; MARTINS, E. N.; FRANCO, S. L.; RIBEIRO, M. C. M. Efeito da solução hidroalcolica de própolis e robenidina sobre a contagem de oocisto por grama de fezes de *Eimeria ssp* em coelhos Nova Zelândia branco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 27, 2, 320-325, 1998.

MOURA, L. P. P. **Longevidade, produção de própolis e áreas de desenvolvimento de colméias de *Apis mellifera* africanizada, submetida a quatro técnicas de coleta, em quatro períodos do ano**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2001.

MOURA, J. & PEGORARO, A. Produção de pólen apícola com coletor nos horários de disponibilidade de alimento no pico da florada da Bracatinga (*Mimosa scabrella*). **Scientia Agraria**, 7, 2, 97-100, 2006.

MUNIZ, F. H. A vegetação da região de transição entre a Amazônia e o Nordeste, diversidade e estrutura. In: MOURA, E. G. (Org.). **Agroambiente de Transição entre o Trópico Úmido e o Semi-árido: Atributos, Alterações e Uso na Produção Familiar**. São Luís: UEMA, p. 44-60, 2004.

MURADIAN, L. B. A.; PAMPLONA, L. C.; COIMBRA, S.; BARTH, O. M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. **Journal of Food Composition and Analysis**, 18, 1, 105-111, 2005.

NAIR, O. L. S.; MENON, S. N.; SHAILAJAN, S.; BAING, M. M.; SANE, R. T. Reversed-phase-high-performance-thin-layer-chromatographic-quantification of mimosine from whole plant of *Mimosa pudica* Linn. *Journal Planar Chromatograph*, 20, 49–51, 2007.

NEGRI, G.; TEIXEIRA, E. W.; ALVES, M. L. T. M. F.; MORETI, A. C. C. C.; OTSUK, I. P.; BORGUINI, R. G.; SALATINO, A. Hydroxycinnamic acid amide derivatives, phenolic compounds and antioxidant activities of extracts of pollen samples from Southeast Brazil. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 59, 5516–5522, 2011.

NETO, J. S. L.; CITO, A. M. G. L.; LOPES, J. A. P.; NETO, J. M. M.; LUZ, C. F. A. Palinologia e composição química de pólen de *Scaptotrigona* sp. de uma microrregião do estado do Piauí. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32. Fortaleza/Ceará, 2009.

NEVES, L. C.; ALENCAR, S. M.; CARPES, S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellífera*. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCFB, 2009.

NIJVELDT, R. J.; NOOD, E. V.; HOORN, D. E. C. V.; BOELEN, P. G.; NORREN, K. V.; LEEUWEN, P. A. M. V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal Clinical Nutrition*, 74, 418-425, 2001.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 446p., 1997.

NOVAIS, J. S.; LIMA, L. C. L.; SANTOS, F. A. R. 2010. Bee pollen loads and their use in indicating flowering in the Caatinga region of Brazil. **Journal of Arid Environments**, 74, 1355 – 1358, 2010.

OLIVEIRA, P. P.; VAN DEN BERG, C.; SANTOS, F. A. R. Pollen analysis of honeys of *Apis mellifera* L. from Caatinga vegetation of Bahia, Brazil. **Grana**, 49, 66-75, 2010.

ORSOLIC, N; BASIC, I. Water-soluble derivative of propolis and its polyphenolic compounds enhance tumoricidal activity of macrophages. **Journal Ethnopharmacology**, 102, 37–45, 2005.

PEDRO, S. R. M. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, 61, 348-354, 2014.

PEIXOTO, G. L.; MARTINS, S. V.; SILVA, A. F.; SILVA, E. L. Composição florística do componente arbóreo de um trecho de Floresta Atlântica na Área de Proteção Ambiental da Serra da Capoeira Grande, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 18, 151-160, 2004.

PENEDO, M. C. T., TESTA, P. R. & ZUCOLOTO, F. S. Valor nutritivo do geval e do levedo de cerveja em diferentes misturas com o pólen para *Scaptotrigona (Scaptotrigona) postica* (Hymenoptera, Apidae). **Ciência e Cultura**, 28, 5, 536-538, 1976.

PEREIRA, J. A.; OLIVEIRA, I.; SOUSA, A.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P.A.; FERREIRA, I. C. F. R.; FERRERES, F.; BENTO, A.; SEABRA, R.; ESTEVINHO, L. Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. **Food and Chemical Toxicology**, 45, 2287-2295, 2007.

PIANARO, A. **Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Pebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides***. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de Campinas, São Paulo, 2007.

PINHEIRO, F. M.; COSTA, C. V. P. N.; BAPTISTA, R. C.; VENTURIERI, G. C.; PONTES, M. A. N. **Pólen de abelhas indígenas sem ferrão *Melipona fasciculata* e *Melipona***

flavolineata: caracterização físico-química, microbiológica e sensorial. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/408842/1/polendeabelhasindigenassemferraomelipona>. Acesso em: 15 dez. 2012.

PINTO, R. S.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; RÊGO, M. M. C. Pollen Analysis of Food Pots Stored by *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a Restinga area, **Sociobiology**, 61, 4, 461-469, 2014.

PINTO, M. S.; FARIA, J. E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T. A.; PEREIRA, C. S.; GIOSO, M. M. Efeito de extrato de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 38, 278-283, 2001.

POSEY, D. O conhecimento entomológico Kayapó: etnometodologia e sistema cultural. **Anuário**, 83, 109-124, 1983.

POSEY, D. A. Hierarchy and utility in a folk biological taxonomic system: patterns in Classification of Arthropods by the Kayapo Indians of Brazil. **Journal of Ethnobiology**, 4, 2, 123-140, 1984.

PRINCIPAL, J.; HERNÁNDEZ, I.; D'AUBETERRE, R., RODRIGUEZ J. G.; Eficacia del propóleo en el control de las helmintiasis de ovinos naturalmente infestados. **Revista Científica**, 12, 2, 604-607, 2002.

RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; RAMOS, M. C.; MENDES, F. N. **Abelhas do Cerrado s.I.** "Dos Gerais de Balsas". In: Cerrado Norte do Brasil (Larissa Barreto, Org.). Pelotas: Ed. USEB, ,165, 2007.

RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE P. M. C. A meliponicultura no estado do Maranhão. In: CONGRESSO IBEROLATINOAMERICANO DE APICULTURA, 10, Natal, 2010. **Anais...** Natal: Multi Records Duplicadora Fonográfica, 2010. CD-ROM.

REIS, C. M. F.; CARVALHO, J. C. T; CAPUTO, L. R. G.; PATRÍCIO, K. C. M.; BARBOSA, M. V. J.; CHIEFF, A. L.; BASTOS, J. K. Atividade antiinflamatória, antiúlcera

gástrica e toxicidade subcrônica do extrato etanólico de própolis. **Revista Brasileira Farmacognosia**. 9-10, 43-52, 2000.

RIBEIRO-JUNIOR, J. A., FRANCHIN, M., CAVALLINI, M. E., DENNY, C., ALENCAR, S.M., IKEGAKI, M., ROSALEN, P. L. Gastroprotective effect of geopropolis from *Melipona scutellaris* is dependent on production of nitric oxide and prostaglandin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2015, 1-5, 2015.

RIBEIRO, M. H. M.; ALBUQUERQUE, P. M. C.; LUZ, C. F. P. D. A. Pollen profile of Geopropolis samples collected of ?Tiúba? (*Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854) in areas of Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, 39, 1-18, 2016.

RIGHI, A.A., ALVES, T.R., NEGRI, G., MARQUES, L.M., BREYER, H.; SALATINO, A. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 91, 2363–2370, 2011.

RODRIGUES, A. S. Até quando o etnoconhecimento sobre as abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae) será transmitido entre gerações pelos índios guarani m'byá da aldeia morro da saudade, localizada na cidade de São Paulo, estado de São Paulo, Brasil? **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, 6, 343-350, 2006.

ROESSNER, U.; LUEDEMANN, A.; BRUST, D.; FIEHN, O.; LINKE, T.; ILLMITZER, L.; FERNIE A. R. Metabolic Profiling Allows Comprehensive Phenotyping of Genetically or Environmentally Modified Plant Systems. **The plant cell**, 13, 11-29, 2001.

ROUBIK, D.W. Pollination of cultivated plants in the tropics. FAO Agricultural Services Bulletin, 118. Rome: **Food and Agriculture Organization of the Unites Nations – FAO**. 198 p, 1995.

ROUBIK, D. W.; PATINO, J. E. M.; PEDRO, S. R. M. **Pot- Honey**: a legacy of stingless bees, Springer Science & Business Media, 718 p., 2013.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **COMUNICADO Técnico 125**, Embrapa - Fortaleza, CE, 2006.

SAEKI, E. K.; MELLO-PEIXOTO, E. C. T.; MATSUMOTO, L. S.; MARCUSO, P. F.; MONTEIRO, R. M. Mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. **Acta Vetrinária Brasileira**, 5, 284-290, 2011.

SANTOS, F. A. R. (ed.). **Apium Plantae**. Recife, IMSEAR, 2006.

SANTOS, G. M.; ANTONINI, Y. The traditional knowledge on stingless bees (Apidae: Meliponina) used by the Enawene-Nawe tribe in western Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, 4, 19, 2008.

SANTOS, F. A. R.; OLIVEIRA, A. V.; LIMA, L. C. L.; BARROS, R. F. M.; SCHLINDWEIN, C.; MARTINS, C. F.; CAMARGO, R. C. R.; FREITAS, B. M.; KIILL, L. 2005. Apícolas. In: E. V. S. B. SAMPAIO; F. G. C. PAREYN; J. M. FIGUEIROA; G.S. ALCIOLI (eds.), **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial**, pp. 15-26. Recife, Associação Plantas do Nordeste.

SATO, T.; MIYATA, G. The nutraceutical benefit. **Nutrition**, 16, 468-469, 2000.

SAXENA, S.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys, **Food Chemistry**, 118, 2, 391-397, 2010.

SCHWARZ, H. F. Stingless bees (Meliponidae) of the Western Hemisphere. **Bull Am Mus Nat Hist**, 90, 17, 1-546, 1948.

SCHMIDT, J. O. BUCHMANN, S. L. In: GRAHAM, J.M.; AMGROSE, J. T.; LANGSTROTH, L.L., eds. **The Hive and the honey bee**: a new book on beekeeping which continues the tradition of “Langstroth on the hive and the honeybee”. Hamilton: Dadant, 928-977, 1992.

SFORCIN, J.M.; BANKOVA, V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? **Journal of Ethnopharmacology**, 133, 253–260, 2011.

SHRUTHI, E.; SUMA, B. Health from the hive: potential uses of propolis in general health. **International Journal of Clinical Medicine**, 3, 159-162, 2012.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; Almeida, E. A. B. Abelhas Brasileiras: Sistemática e Identificação. Ministério do Meio Ambiente, Fundação Araucária, Belo Horizonte, 2002.

SHOSKES, D. A. Phytotherapy in chronic prostatitis, **Urology**, 60, 1, 35-37, 2002.

SHOSKES, D. A.; MANICKAM, K. Herbal and complementary medicine in chronic prostatitis. **World Journal of Urology**, 21, 109-113, 2003.

SILVA, A. C., & MOURA, E. G. Atributos e especificidades de solos de Baixada no trópico úmido. In: Moura, E. G. (Org.). *Agroambiente de transição entre o Trópico Úmido e o Semi-árido: Atributos, Alterações e Uso na Produção Familiar*.p.118-143, São Luís, UEMA, 2004.

SILVA, C. H. M. Pólen. In: SEMINÁRIO ESTADUAL DE APITERAPIA E APIPROFILAXIA, 1, Santa Maria-RS. **Anais...**, p.5. 23p, 1998.

SILVA, P. G. F.; ZUCOLOTO, F. S. Influência de microrganismos no valor nutritivo do pólen para *Scaptotrigona depilis*, Moure (Hymenoptera, Apidae). In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS EM RIBEIRÃO PRETO, 1, 1994. **Anais**. Ribeirão Preto - SP. 1994. p. 232-242.

SILVA, P. G. F.; SERRÃO, J. E.; Nutritive value and apparent digestibility of bee-collected and bee-stored pollen in the stingless bee *Scaptotrigona postica* Latr. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Apidologie**, 31, 1, 39-45, 2000.

SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA LINS, A. C.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SARAMENTO da SILVA, E. M.; FREITAS, B. M.; RIBEIRO dos SANTOS, F.A. Chemical

composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. **Journal of Food Composition and Analysis**, 19, 507–511, 2006.

SILVA, S. S.; MIRANDA, M. M.; COSTA, I. N.; WATANABE, M. A. E.; PAVANELLI, W. R.; FELIPE, I.; SFORCIN, J. M.; CONCHON-COSTA, I. Leishmanicidal activity of brazilian propolis hydroalcoholic extract in *Leishmania amazonenses*. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, 36, 2, 25-34, 2015.

SILVA, E. C. C.; MUNIZ, M. P.; NUNOMURA, R. C. S.; NUNOMURA, S. M.; ZILSE, G. A. C. Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geoprópolis de duas espécies de abelhas sem ferrão amazônicas. **Química Nova**, 36, 5, 628-633, 2013.

SILVA, G. R.; NATIVIDADE, T. B.; CAMARA, C. A.; SILVA, E. M. S.; SANTOS, F.; A. R.; SILVA, T. M. S. Identification of sugar, amino acids and minerals from the Pollen of jandaira stingless bees (*Melipona subnitida*), **Food and Nutrition Sciences**, 5, 11, 1015–1021, 2014.

SILVA, T. M.S.; CAMARA, C. A.; LINS, A. C. S.; AGRA, M.F.; SILVA, E. M.S.; REIS, I. T.; FRITAS, B. M. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (uruçumarela). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 81, 2, 173-178, 2009.

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. L. Abelhas sem ferrão: muito mais que uma importância econômica. **Natureza on line**, 3, 10, 2012.

SILVEIRA, F. A. A importância da Palinologia nos estudos apícolas. . In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11., Teresina, 1996. Teresina: Confederação Brasileira de Apicultura, p. 269-273, 1996.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte, IDMAR, p. 253, 2002.

SLAA, E. J.; SÁNCHEZ CHAVEZ, L. A.; MALAGODI-BRAGA, K. S.; HOFSTEDTE, F. E. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. **Apidologie**, 37, 293-315, 2006.

SOUZA, S. A.; CAMARA, C. A.; SILVA, E. M. S.; SILVA, T. M. S. Composition and antioxidant activity of geopropolis collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) Bees. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013, 1-5, 2013.

SOUZA, S.A.; DIAS, T.L.M.F.; SILVA, T.M.G.; FALCÃO, R.A.; ALEXANDRE-MOREIRA, M.S.; SILVA, E.M.S.; CAMARA, C.A.; SILVA, T.M.S. Chemical composition, antinociceptive and free radical-scavenging activities of geopropolis from *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). **Sociobiology**, 61, 4, 560-565, 2015.

SOUZA, R. C. S.; YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; OLIVEIRA, F. P. M. Nutricional value of honey and pollen of stingerless bees of the Amazonian region, **Acta Amazonica**, 34, 2, 333 – 336, 2004.

STAFF, I. A.; TAYLOR, P. E.; SMITH, P.; SINGH, M. B.; KNOX, R. B. Cellular localization of water soluble, allergenic proteins in ryegrass (*Lolium perenne*) pollen using monoclonal and specific IgE antibodies with immunogold probes. **Histochem Journal**, 22, 5, 276-290, 1990.

STONOGA, V. I.; FREITAS, R. J. S. D. Conteúdo de água e açúcares em mel de abelhas, **Bd Ceppa**, 9, 9-16, 1991.

TONKS, A. A. 5.8k Da component of manuka honey stimulates immune cells via TLR4. **Journal Leukocyte Biology**, 82, 2007.

TORRES, V. S. **Flora de importância apícola e melipônica**. 1 ed. São Paulo: LP Books, 200p., 2012.

TORRES, A.; GARADEW, A.; SCHMOLZ, E.; LAMPRECHT, I. Calorimetric investigation of the antimicrobial action and insight into the chemical properties of “angelita” honey - a product of the stingless bee *Tetragonisca angustula* from Colombia. **Acta Thermochim**, 415, 107-113, 2004.

TORRES-GONZÁLEZ, A.; LÓPEZ-RIVERA, P.; DUARTE-LISCI, G.; LÓPEZ-RAMÍREZ, Á.; CORREA-BENÍTEZ, A.; RIVERO-CRUZ, J. F. Analysis of volatile components from

Melipona beecheii geopropolis from Southeast Mexico by headspace solid-phase microextraction. **Natural product research**, 30, 2, 237-240, 2016.

TRINDADE, C. S. P. C.; CAMPOS, J. F.; EBERHARDT, G. N. S.; NEGRÃO, F. J.; BALESTIERI, J. B. P.; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L. Avaliação da atividade antimicrobiana da própolis de *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). Congresso Brasileiro de Entomologia, 22, Uberlândia. 2008.

VANHANEN, L. P.; EMMERTZ, A.; SAVAGE, G. P. Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. **Food Chemistry**, 128, 1, 236–240, 2011.

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; COSTA, M. M.; SILVA, M. S.; VIANA, L. R. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato etanólico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, 34, 159-163, 2004.

VELIKOVA, M.; BANKOVA, V.; MARCUCCI, M. C.; TSVETKOVA, I.; KUJUMGIEV, A. Chemical composition and biological activity of propolis from brazilian meliponinae. **Zeitschrift für Naturforschung**, 55c, 785 – 789, 2000 a.

VELIKOVA, M.; BANKOVA, V.; TSVETKOVA, I.; KUJUMGIEV, A.; MARCUCCI, M. C. Antibacterial ent-kaurene from brazilian propolis of native stingless bees. **Fitoterapia**, 71, 693 – 696, 2000 b.

VELTHUS, H. H. W.; CORTOPASSI-LAURINO, M; PEREBOM, Z.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The conservative egg of the genus *Melipona* and its consequence for speciation. In: MELO, G.A.R.; do SANTOS, I. A. **Apoidea Neotropical: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma:UNESC, p. 171-176, 2003.

VENTURIERI, G. C. The impact of forest exploitation on Amazonian stingless bees (Apidae, Meliponini). **Genetic Molecular Research**, 8, 2, 684-689, 2009.

VENTURIERI, G. C. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. 2 ed. Belém, PA: Embrapa Amazonia Oriental, 2008. 60p.

VENTURIERI, G. C.; ALVES, D. A.; VILLAS-BOAS, J. K.; CARVALHO, C. A. L.; MENEZES, C.; VOLLET NETO, A.; CONTRERA, F. A. L.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; NOGUEIRA-NETO, P.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Meliponicultura no Brasil: situação atual e perspectivas futuras. In: Imperatriz-Fonseca VL, Canhos D, Alves DA, Saraiva AM (org) Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais. São Paulo, EDUSP, p. 213-236, 2012.

VIEIRA, L. M. **Mel**. Síntese anual da Agricultura de Santa Catarina 2009 – 2010, parte I, p. 225 – 235, 2011. Disponível em: http://cepa.epagri.sc.gov.br/124Publicacoes/Sintese_2010/sintese%202010_inteira.pdf. Acesso em: 01 dez.2012.

VILLANUEVA, G. R. Polliniferous plants and foraging strategies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the Yucatán Peninsula, México. **Revista de Biología Tropical**, 50, 1035-1044, 2002.

VILANUEVA, M. T. O.; MARQUINA, A. D.; SERRANO, R. B.; ABELLÁN, G. B. The importance of bee-collected pollen in the diet: a study of its composition. **International Journal of foods Sciences and Nutrition**, 53, 3, 217-224, 2002.

VILLAREAL, L. P. S.; NUNOMURA, R. C. S.; ZILSE, G. A. C. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de pólen coletado pela abelha sem ferrão *Melipona seminigra* na região amazônica. In: 32ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Fortaleza/Ceará, 2009.

VILLAS-BÔAS, J. K.; MALASPINA, O. Parâmetros físico-químicos propostos para o controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. **Revista Mensagem Doce**, São Paulo, n. 82, 2005. Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/82/artigo2.htm>>. Acesso em: 10 mar. 2014.

VIT, P.; FERNANDÉZ-MAESO, M.C.; ORTIZ-VALBUENA, A. Potential use of three frequently occurring sugars in honey to predict stingless bee entomological origin. **Journal of Applied Entomology**, 122, 5-8, 1998.

XIMENES, L. J. F.; COSTA, L. S. A.; NASCIMENTO, J. L. S. **Manejo racional de abelhas africanizadas e de meliponídeos no nordeste do Brasil**. Fortaleza: Banco do Nordeste, 385 p., 2011.

ZAMUDIO, F.; HILGERT, N. I. Cómo los conocimientos locales aportan información sobre la riqueza de especies de abejas sin aguijón (Apidae:Meliponini) del norte de Misiones, Argentina. **Interciencia**, 37, 1, 36-43, 2012a.

ZAMUDIO, F.; HILGERT, N. I. Descriptive attributes used in the characterization of stingless bees (Apidae: Meliponini) in rural populations of the Atlantic forest (Misiones-Argentina). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, 8, 9, 2012.

ZAMUDIO, F.; KUJAWSKA, M.; HILGERT, N. I. Honey as Medicinal and Food Resource. Comparison between Polish and Multiethnic Settlements of the Atlantic Forest, Misiones, Argentina. **Open Complement Medical Journal**, 2, 58-73, 2010.

ZHAO, J.; ZHANG, C. Y.; XU, D. M.; HUANG, G. Q.; XU, Y. L.; WANG, Z. Y.; FANG, S. D.; CHEN, Y.; GU, Y. L. Further study of pollen *Typhae's* effects on the production of tPA and PGI-2 by cultured endothelial cells. **Thrombosis Research**, 56, 6, 677-685, 1989.

ZHAO, J.; ZHANG, C. Y.; XU, D. M.; HUANG, G. Q.; XU, Y. L.; WANG, Z. Y.; FANG, S. D.; CHEN, Y.; GU, Y. L. The antiatherogenic effects of components isolated from pollen *Typhae*. **Thrombosis Research**, 57, 6, 957-966, 1990

ANEXO

Artigo publicado a revista Journal of agricultural and food chemistry

Phenolic Acids, Hydrolyzable Tannins, and Antioxidant Activity of Geopropolis from the Stingless Bee *Melipona fasciculata* Smith

Richard Pereira Dutra, Bruno Vinicius de Barros Abreu, Mayara Soares Cunha, Marisa Cristina Aranha Batista, Luce Maria Brandão Torres, Flavia Raquel Fernandes Nascimento, Maria Nilce Sousa Ribeiro, Rosane Nassar Meireles Guerra.