



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



**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FITOGEOGRÁFICA DE GEOPRÓPOLIS DAS
ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS DO MARANHÃO**

MONIQUE HELLEN MARTINS RIBEIRO

São Luís - MA

Junho / 2017

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

Ribeiro, Monique Hellen Martins.

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FITOGEOGRÁFICA DE GEOPRÓPOLIS
DAS ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS DO MARANHÃO / Monique
Hellen Martins Ribeiro. - 2017.
153 f.

Coorientador(a): Cynthia Fernandes Pinto da Luz.

Orientador(a): Patrícia Maia Correia de Albuquerque.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede -
Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia
Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís-Ma,
2017.

1. Abelhas sem ferrão. 2. Compostos fenólicos. 3.
Flora melipônica. 4. Grãos de pólen. I. Fernandes
Pinto da Luz, Cynthia. II. Maia Correia de Albuquerque,
Patrícia. III. Título.

MONIQUE HELLEN MARTINS RIBEIRO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FITOGEOGRÁFICA DE GEOPRÓPOLIS DAS
ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS DO MARANHÃO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientadora: Prof^ª.Dra. Patrícia Maia Correia de Albuquerque

Co-orientadora: Prof^ª.Dra. Cynthia Fernandes Pinto da Luz

São Luís - MA

Junho / 2017

MONIQUE HELLEN MARTINS RIBEIRO

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FITOGEOGRÁFICA DE GEOPROPOLIS DAS
ESPÉCIES DE ABELHAS NATIVAS DO MARANHÃO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Patrícia Maia Correia de Albuquerque

Profa. Dra. Cynthia Fernandes Pinto da Luz

Profa. Dra. Esther Margarida Alves Ferreira Bastos

Prof. Dr. Richard Pereira Dutra

Profa. Dra. Márcia Maria Corrêa Rêgo

Prof. Dr. Eduardo Bezerra de Almeida Júnior

DEDICATÓRIA

Dedico inteiramente a minha mãe (avó) Maria do Socorro que sempre me incentivou a realizar todos os meus objetivos e que apesar das limitações, hoje ocasionadas pelo Alzheimer, nunca deixou de confiar em mim. E que mesmo com a perda da memória, por mim ela nunca será esquecida...

AGRADECIMENTOS

Concluir essa Tese não foi uma tarefa fácil, mas quem disse que seria simples? Dizem os mais experientes que quando os esforços são maiores, damos mais valor as nossas conquistas...Nessa altura do campeonato após esses mais de 4 anos é impossível lembrar de todos que contribuíram com esta pesquisa.

Há pessoas que passam pelas nossas vidas e nos marcam de uma forma intensa que é impossível esquecer-las. Estas que me ensinaram, mostraram os caminhos, me fizeram refletir, me repreenderam, me fizeram querer ser uma profissional melhor a cada dia... é muito difícil agradecer por tudo isso, faltam palavras ou não existem palavras suficientes para expressar meus sinceros agradecimentos, mas aqui deixo expresso meus agradecimentos às pessoas e às instituições que direta e/ou indiretamente permitiram a conclusão desta Tese.

Primeiramente sou agradecida à Deus pela dádiva da minha vida e por, em muitos momentos ter me proporcionado paz, serenidade e sabedoria para enfrentar os obstáculos e superar os desafios.

À minha mãe, Maria do Socorro, por todo apoio e por nunca ter medido esforços para conceder-me uma boa educação e me incentivar a lutar pelos meus objetivos.

A todos os meus familiares em especial minhas tias Soraya e Silvia e minha prima Rayssa Lucas pelo carinho, atenção, amor, confiança e incentivo a continuar a concretização dos meus sonhos.

A meu namorado, Eduardo Lima, pelos momentos vivenciados, companheirismo, incentivo, dedicação, confiança, por acreditar em mim e na minha capacidade e pelas palavras de apoio nos momentos que necessitei.

A professora Dr^a. Patrícia Maia Correia de Albuquerque pela Orientação.

A professora Dr^a. Cynthia Luz pela orientação, pela confiança, incentivo na conclusão da pesquisa e ensinamentos na palinologia que levarei para a vida toda.

A Ângela Pando pela amizade e incentivo, além dos ensinamentos na palinologia que levarei para toda vida.

A professora Dr^a. Maria Nilce Sousa Ribeiro pelas sugestões, incentivo e por aceitar ajudar na parte química da pesquisa.

A professora Dr^a. Eleuza Tenório por acompanhar nas coletas, ter acreditado na pesquisa e pela ajuda de campo.

Aos amigos que conquistei na Farmacognosia José Wilson e Ludmilla Mesquita que me ajudaram nas análises químicas, aturaram minha inexperiência e confiaram na pesquisa.

A Mayara Cunha pela ajuda na identificação dos compostos químicos.

A Karine Lima pelo auxílio na pesquisa, amizade e incentivo.

A minha amiga Josilene Serra pela amizade e incentivo.

Ao meu amigo Rafael Pinto pela amizade e incentivo.

A minha querida amiga Ana Paula Cutrim que tenho um carinho enorme, pela amizade, carinho, atenção e por sempre confiar e acreditar em mim.

A minha amiga Cristiane Marques por me ajudar, tirar dúvidas, dá sugestões, momentos de descontração e amizade.

A minha amiga de turma que o doutorado me proporcionou conhecer, Michelle Lacerda, pela amizade, confiança, sugestões, palavras de incentivo e me escutar nos momentos “deprê”.

A equipe do Laboratório de Estudos sobre Abelhas (LEA), ao qual fiz parte desde a graduação e me fez crescer profissionalmente e pelo espaço para realização da pesquisa.

Ao Instituto de Botânica de São Paulo (IBt) por conceder a estrutura para realização da parte palinológica do trabalho.

Ao corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia pelos saberes que me foram transmitidos.

Ao Sr. Martinho meliponicultor e sua família por conceder seu meliponário para a pesquisa e confiar no trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento ao Ensino Superior (CAPES) pela concessão da Bolsa de doutorado e pelo financiamento do Projeto pelo Pró-Amazônia.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Maranhão (FAPEMA) pela concessão de um ano de bolsa de doutorado e financiamento do projeto de pesquisa.

À Universidade Estadual do Maranhão por ter concedido transporte para as coletas.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização e concretização deste trabalho.

EPÍGRAFE

“Alguns homens vêm as coisas como são, e dizem ‘Por quê?’ Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo ‘Por que não?’”

(Geroge Bernard Shaw)

RESUMO

Analizou-se o espectro polínico de cento e trinta amostras de geoprópolis das seguintes espécies de *Melipona*: *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida*. As amostras foram coletadas no município de Santa Luzia do Paruá, na região do Alto Turi, que pertence ao domínio amazônico, do estado do Maranhão. Este estudo teve como objetivo reconhecer o perfil fitogeográfico e químico de amostras da geoprópolis de *Melipona* e auxiliar na caracterização da vegetação fornecedora de resina para estas abelhas. As amostras de geoprópolis foram obtidas mensalmente de dezembro/2013 a dezembro/2014 a partir de ninhos mantidos em caixas de madeira em meliponário particular. A análise palinológica foi feita de acordo com a metodologia padrão proposta por Barth (1998). O perfil químico das amostras foi determinado por meio das análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (CL-EM) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM). Também foram quantificados o teor de polifenóis totais (TPT), por meio do uso dos reagentes Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 20%; de flavonoides totais (TFT) por meio do método fotolorimétrico com solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 5%, e da atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis pelo ensaio do radical livre DPPH (Brand-Williams et al. 1995). Foram identificados 148 tipos polínicos, distribuídos em 49 famílias, 108 gêneros e dois tipos não identificados. Nas amostras de geoprópolis de *M. subnitida* identificou-se 107 tipos polínicos distribuídos em 40 famílias e 72 gêneros. Nas de *M. seminigra* foram observados 93 tipos polínicos, 37 famílias e 70 gêneros. Para *M. flavolineata* foram 98 tipos polínicos, pertencentes a 33 famílias e 72 gêneros. Já em *M. fasciculata* foram 64 tipos polínicos, 28 famílias e 53 gêneros, sendo, portanto, a que apresentou menor riqueza de pólen nas amostras. Fabaceae apresentou a maior riqueza de tipos polínicos (39 tipos), seguida de Rubiaceae (11 tipos). Os tipos polínicos mais comuns às espécies de *Melipona* foram: *Attalea speciosa*, *Anacardium*, *Borreria verticillata*, *Baccharis*, *Clusia*, *Chamaecrista*, *Croton*, *Euterpe/Syagrus*, *Eucalyptus*, *Hyptis*, *Mauritia*, *Mimosa pudica*, *M. caesalpinaefolia*, *Mouriri*, *Myrcia/Psidium*, *Protium* e *Symphonia globulifera*, que caracterizaram o perfil fitogeográfico da geoprópolis dessa região. Enquanto *Anacardium*, *Ardisia*, *Baccharis*, *Caryocar*, *Clusia*, *Clusia grandiflora*, *Eucalyptus*, *Eupatorium*, *Hyptis*, *Myrcia/Psidium*, *Platonia insignis*, *Protium*, *Spondias*, *Symphonia globulifera*, *Tapirira* e *Vismia* foram as possíveis espécies vegetais fornecedoras de resina para a geoprópolis de *Melipona*. Revelou-se a presença de vários compostos, que foram tentativamente caracterizados como ácido quínico, derivados de

benzofenonas, flavonoide O-glicosilado e xantonas. O composto mangiferina esteve presente em todas as amostras. Também foi verificada a presença de benzofenonas que parecem estar envolvidas na biossíntese de xantonas glicosiladas. Os extratos apresentaram teores de flavonoides acima de 2% que permitem classificá-los, de acordo com a legislação brasileira como geoprópolis com alto teor de flavonoides. Para a atividade antioxidante ocorreu uma variação de 2,20 a 44,35%. Houve uma variação no teor de compostos fenólicos e flavonoides entre as diferentes amostras das quatro espécies de *Melipona* analisadas. Os resultados obtidos indicam que a espécie de abelha e a época de coleta, bem como a interação entre esses fatores, influenciam a concentração de compostos bioativos na geoprópolis. Desta forma, acreditamos que os resultados obtidos contribuem significativamente para a caracterização da geoprópolis das abelhas sem ferrão proveniente da Amazônia Maranhense e evidenciam a importância de ampliarmos os estudos de caracterização química e padronização dos parâmetros de qualidade do produto, visto que este constitui uma rica fonte de compostos bioativos com grande potencial farmacológico.

Palavras-Chave: Grãos de pólen, flora meliponícola, abelhas sem ferrão, compostos fenólicos.

ABSTRACT:

We analyzed the pollen spectrum of one hundred and thirty geopropolis samples of the following species of *Melipona*: *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* and *M. subnitida*. Samples were collected in the municipality of Santa Luzia do Paruá, in the Alto Turi region, which belongs to the Amazon region, in the state of Maranhao. The objective of this study was to recognize the phytogeographic and chemical profile of the *Melipona* geopropolis samples and to help characterize the resin supplying vegetation for these bees. The geopropolis samples were collected monthly from December/2013 to December/2014 from nests kept in wooden boxes in a particular meliponary. The palynological analysis was done according to the standard methodology proposed by Barth (1998). The chemical profile of the samples was determined by high performance liquid chromatography (CLAE), liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC / MS) analysis. And also included quantification of the content of total polyphenols (TPT) through the use of Folin-Ciocalteau reagents and sodium carbonate 20%; total flavonoids (TFT) by the photocolometric method with methanolic solution of aluminum chloride (AlCl₃) 5%, and the antioxidant activity of the hydroalcoholic extracts of geopropolis by the DPPH free radical assay (Brand-Williams *et al*). A total of 148 pollen types were identified, distributed in 49 families, 108 genera and two unidentified types. In the geopropolis samples of *M. subnitida* 107 pollen types were distributed in 40 families and 72 genera. In the *M. seminigra*, 93 pollen types, 37 families and 70 genera were observed. For *M. flavolineata* were 98 pollen types, belonging to 33 families and 72 genera. In *M. fasciculata* there were 64 pollen types, 28 families and 53 genera, being therefore the one with the lowest pollen richness in the samples. Fabaceae presented the highest richness of pollen types (39 types), followed by Rubiaceae (11 types). The pollen types most common to *Melipona* species were: *Attalea speciosa*, *Anacardium*, *Borreria verticillata*, *Baccharis*, *Clusia*, *Chamaecrista*, *Croton*, *Euterpe/Syagrus*, *Eucalyptus*, *Hyptis*, *Mauritia*, *Mimosa pudica*, *M. caesalpinaefolia*, *Mouriri*, *Myrcia* / *Psidium*, *Protium* And *Symphonia globulifera*, which characterized the phytogeographic profile of the geopropolis of this region. *Aniadium*, *Ardisia*, *Baccharis*, *Caryocar*, *Clusia*, *Clusia grandiflora*, *Eucalyptus*, *Eupatorium*, *Hyptis*, *Myrcia/Psidium*, *Platonia insignis*, *Protium*, *Spondias*, *Symphonia globulifera*, *Tapirira* and *Vismia* were the possible resin species suppliers for the *Melipona* geoprópolis. The presence of various compounds which have been tentatively characterized as quinic acid, benzophenone derivatives, O-glycosylated flavonoid and xanthenes have been

disclosed. The mangiferin compound was present in all samples. It was also verified the presence of benzophenones that appear to be involved in the biosynthesis of glycosylated xanthenes. The extracts presented flavonoid contents above 2%, which allows them to be classified according to Brazilian legislation as a geopropolis with a high content of flavonoids. For the antioxidant activity a variation of 2.20 to 44.35% occurred. There was a variation in the content of phenolic compounds and flavonoids among the different samples of the four *Melipona* species analyzed. The results indicate that the bee species and the collection season, as well as the interaction between these factors, influence the concentration of bioactive compounds in the geopropolis. Thus, we believe that the results obtained contribute significantly to the geopropolis characterization of stingless bees from Amazonia Maranhense and show the importance of expanding the studies of chemical characterization and standardization of product quality parameters, since this is a rich source of bioactive compounds with great pharmacological potential.

Keywords: pollen grains, stingless bee flora, stingless bees, chemical composition

Sumário

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
2.1. OS MELIPONÍNEOS.....	21
2.2. PRÓPOLIS X GEOPRÓPOLIS	25
2.3. PALINOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA ORIGEM FITOGEOGRÁFICA E BOTÂNICA DE ABELHAS SEM FERRÃO	27
2.4. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS	29
2.5. ATIVIDADES QUÍMICAS	32
2.5.1. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	32
2.5.2. COMPOSTOS FENÓLICOS.....	33
2.5.3. FLAVONOIDES.....	33
3. OBJETIVOS.....	34
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4. JUSTIFICATIVA	35
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
6. LISTA DE PUBLICAÇÕES	49
CAPÍTULO 1: Palynology as a tool for distinguishing geopropolis samples from <i>Melipona</i> species in the Maranhense Amazon, Brazil.....	49
CAPÍTULO 2: PERFIL PALINOLÓGICO, CONSTITUINTES FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA GEOPRÓPOLIS DE MELIPONINI NA AMAZÔNIA MARANHENSE.....	88
CAPÍTULO 3: Análise palinológica e composição química da geoprópolis de <i>Melipona (Melikerria) fasciculata</i> Smith 1854 em uma região da Amazônia Maranhense, Brasil	120
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	151
8. ANEXOS.....	152

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: A palinologia como ferramenta para distinguir amostras de geoprópolis de quatro espécies de abelhas sem ferrão em uma região da Amazônia Maranhense, Brasil.

Palynology as a tool for distinguishing geopropolis samples from *Melipona* species in the Maranhense Amazon, Brazil.

Figura 1: Mapa de localização do Meliponário de coleta das amostras de geoprópolis de Meliponíneos no município de Santa Luzia do Paruá, Maranhão, Brasil. 55

Figure 1: Map showing the location of the meliponary where stingless bee geopropolis samples were collected in the municipality of Santa Luzia do Paruá, Maranhão, Brazil.

Figura 2: Distribuição dos tipos polínicos nas amostras de geoprópolis de Meliponíneos por meses de coleta (dezembro/2013 a dezembro/2014) no município de Santa Luzia do Paruá, MA, Brasil. 58

Figure 2: Distribution of the pollen types in samples stingless bee geopropolis by month of collection (December 2013 to December 2014) in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA, Brazil.

Figure 3: Tipos polínicos comuns observados em amostras de geoprópolis de *Melipona subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* and *M. fasciculata* from Amazonian areas of Maranhão State, Brazil: a. *Anacardium* (Anacardiaceae); b. *Attalea speciosa* (Arecaeae); c. *Baccharis* (Asteraceae); d. *Vernonia* Tipo I (Asteraceae); e. *Protium leptostachyum* (Burseraceae); f. *Clusia* (Clusiaceae); g. *Symphonia globulifera* (Clusiaceae); h. *Chamaesyce* Tipo I (Euphorbiaceae); i. *Omphalea* (Euphorbiaceae); j. *Chamaecrista* (Faboideae); k. *Lacistema* (Lacistemaceae); l. *Hyptis* (Lamiaceae); m. *Mouriri* (Melastomataceae); n. *Myrcia/Psidium* (Myrtaceae); o. *Borreria verticillata* (Rubiaceae). Scale bars = 10µm. 59

Figure 3: Common pollen types observed in geopropolis samples from *Melipona subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* and *M. fasciculata* colonies in the Amazonian areas of Maranhão state, Brazil: a. *Anacardium* (Anacardiaceae); b. *Attalea speciosa* (Arecaeae); c. *Baccharis* (Asteraceae); d. *Vernonia* Tipo I

(Asteraceae); e. *Protium leptostachyum* (Burseraceae); f. *Clusia* (Clusiaceae); g. *Symphonia globulifera* (Clusiaceae); h. *Chamaesyce* Tipo I (Euphorbiaceae); i. *Omphalea* (Euphorbiaceae); j. *Chamaecrista* (Fabaceae); k. *Lacistema* (Lacistemaceae); l. *Hyptis* (Lamiaceae); m. *Mouriri* (Melastomataceae); n. *Myrcia/Psidium* (Myrtaceae); o. *Borreria verticillata* (Rubiaceae). Scale bars = 10µm.

Figura 4: Ordenamento dos componentes principais (ACP) das amostras mensais de geoprópolis de quatro espécies de abelhas (*M. subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*) no município de Santa Luzia do Paruá, MA, Brasil (▲ = Código dos tipos polínicos identificados). 61

Figure 4: Ordination of the principal component analysis (PCA) for monthly geopropolis samples from stingless bee species (*M. subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* and *M. fasciculata*) in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA, (= Codes for pollen types identified). 62

Figura 5: Dendrograma de similaridade entre as amostras mensais da geoprópolis de quatro espécies de abelhas (*M. subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* e *M. fasciculata*) no período de dezembro/2013 a dezembro/2014 no município de Santa Luzia do Paruá-Ma, Brasil. 62

Figure 5: Dendrogram showing similarity among monthly samples of the geopropolis from four stingless bee species (*M. subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* and *M. fasciculata*) from December 2013 to December 2014 in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA, Brazil. 62

CAPÍTULO 2: Perfil Palinológico, Constituintes Fenólicos e Atividade Antioxidante da Geoprópolis de Meliponini na Amazônia Maranhense

Figura 1: Localização do Meliponário de coleta das amostras de geoprópolis de Meliponíneos no município de Santa Luzia do Paruá, do estado do Maranhão, Brasil. 93

Figura 2: Fotomicrografias de grãos de pólen observados nas amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida* na Amazônia Maranhense, Brasil: 1- *Anacardium*. 2- *Attalea speciosa*. 3- 97

Baccharis. **4-** *Adenocalymna inundatum*. **5-** *Protium*. **6-** *Platonia insignis*. **7-** *Symphonia globulifera*. **8-** *Machaerium*. **9-** *Stryphnodendron*. **10-** *Vismia*. **11-** *Miconia/Tibouchina*. **12-** *Mouriri*. **13-** *Myrcia/Psidium*. **14-** *Borreria verticillata*. **15-** *Serjania*. Escala = 10µm.

Figura 3: Análise de Componentes Principais (ACP) das amostras de geoprópolis de abelhas do gênero *Melipona* em Santa Luzia do Paruá, Ma, Brasil. 99

Figura 4: Dendograma de similaridade das amostras de *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida* na Amazônia Maranhense, Brasil.

CAPÍTULO 3: Análise palinológica e composição química da geoprópolis de *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854 em uma região da Amazônia Maranhense, Brasil.

Figura 1: Localização do meliponário de coleta das amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*. 100

Figura 2: Fotomicrografias de grãos de pólen observados nas amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* em uma região da Amazônia Maranhense, Brasil: **1-Anacardiaceae**, *Anacardium*. **2-Anacardiaceae**, *Maguifera*. **3-Rubiaceae**, *Borreria verticillata*. **4-Hypericaceae**, *Vismia*. **5-Asteraceae**, *Vernonia*. **6-Burseraceae**, *Protium*. **7-Myrsinaceae**, *Ardisia*. **8-Lamiaceae**, *Hyptis*. **9-Myrtaceae**, *Myrcia/Psidium*. **10- Fabaceae**, *Mimosa pudica*. Escala= 10µm. 128

Figura 3: Cromatogramas UV em 281 nm dos extratos hidroalcoolicos de geoprópolis de *Melipona fasciculata*. EGP1 (A), EGP2 (B), EGP3 (C), EGP4 (D). 132

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO:

Tabela 1: Espécies de abelhas sem ferrão que são criadas na Amazônia brasileira (adaptado de Cortopassi-Laurino, 2006). 19

CAPÍTULO 1: A palinologia como ferramenta para distinguir amostras de geoprópolis de quatro espécies de abelhas sem ferrão em uma região da Amazônia Maranhense, Brasil.

Tabela 1: Tipos polínicos coletados por *Melipona fasciculata* (Mfa), *Melipona flavolineata* (Mfl), *Melipona seminigra* (Msem) e *Melipona subnitida* (Msub) no período de dezembro/2013 a dezembro/2014, no município de Santa Luzia do Paruá, MA, Brasil (Frequência polínica por mês (>45% (P), 15 a 45% (S), 3 a 15% (I) e <3% (M). **= Tipos polínicos restritos as amostras de uma espécie de abelha. *= Presença na amostra. 64

Table 1: Pollen types collected by *Melipona fasciculata* (Mfa), *Melipona flavolineata* (Mfl), *Melipona seminigra* (Msem) and *Melipona subnitida* (Msub) from December / 2013 to December / 2014, in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA , Brazil (Pollen frequency per month (> 45% (P), 15 to 45% (S), 3 to 15% (I) and <3% (M)) ** Pollen types restricted to samples of a species of Bee. * = Presence in the sample.

Tabela 2: Frequência de Ocorrência dos tipos polínicos identificados na geoprópolis de Abelhas sem ferrão no período de dezembro/2013 a dezembro/2014, no município de Santa Luzia do Paruá, MA, Brasil (Segundo Jones e Bryant Jr. (1996): Muito frequente (>50%), frequente (20-50%), pouco frequente (10-20%) e raro (<10%)). 72

Table 2: Occurrence frequency of the pollen types identified in the stingless bees geopropolis from December / 2013 to December / 2014, in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA, Brazil (According to Jones and Bryant Jr. 1996: Frequent (> 50%), frequent (20-50%), infrequent (10-20%) and rare (<10%)).

CAPÍTULO 2: Perfil Palinológico, Constituintes Fenólicos e Atividade Antioxidante da Geoprópolis de Meliponini na Amazônia Maranhense.

Tabela 1: Teor de fenóis totais (%) (m/m), Teor de flavonoides totais (%) (m/m) e Atividade antioxidante (%) com seus respectivos desvios padrão dos dezesseis extratos hidroalcoólicos da geoprópolis de *M. fasciculata*, *M. flavolineta*, *M. seminigra* e *M. subnitida*. 101

Tabela 2: Tipos Polínicos identificados nas amostras de geoprópolis de *M. fasciculata* EGP1 (Dez/13), EGP2 (Fev/14), EGP3(Jun/14) e EGP4 (Jul/14). Para *M. flavolineata*: EGP5 (Jan/14), EGP6 (Fev/14), EGP7(Jun/14) e EGP8 (Jul/14). *M. seminigra* os extratos EGP9 (Jan/14), EGP10 (Jun/14), EGP11 (Agos/14) e EGP12 (Nov/14) e nas de *M. subnitida* EGP13 (Jan/14), EGP14 (Mar/14), EGP15 (Agos/14) e EGP16 (Nov/14). 102

CAPÍTULO 3: Análise palinológica e composição química da geoprópolis de *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854 em uma região da Amazônia Maranhense, Brasil.

Tabela 1: Tipos Polínicos identificados nas amostras de geoprópolis de *M. fasciculata* 133

Tabela 2: Compostos tentativamente identificados no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EPG1) por CL-UV-ESI-EM/EM. 135

Tabela 3: Compostos tentativamente identificados no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EPG2) por CL-UV-ESI-EM/EM. 135

Tabela 4: Compostos tentativamente identificados no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EPG3) por CL-UV-ESI-EM/EM. 136

Tabela 5: Compostos tentativamente identificados no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EPG4) por CL-UV-ESI-EM/EM. 136

1. INTRODUÇÃO

As abelhas indígenas sem ferrão (Apidae, Meliponini) são um grupo diverso de himenópteros eussociais, vivendo em colônias de centenas a milhares de abelhas, dependendo da espécie. Estão distribuídas nas áreas tropicais e subtropicais do mundo (MICHENER, 2007), com maior parte de suas espécies (cerca de 400 descritas) ocorrendo na região neotropical, sendo o Brasil o país com a maior riqueza de espécie descrita (CAMARGO & PEDRO, 2008; MOURE et al., 2007; SILVEIRA et al., 2002). As abelhas sem ferrão são generalistas, coletando néctar e pólen de uma vasta variedade de plantas (BIESMEIJER et al., 2005; NOGUEIRA-NETO, 1997; SILVEIRA et al., 2002; RAMALHO et al., 1990; RÊGO et al., 2008) e consideradas importantes polinizadores de plantas nativas tropicais e subtropicais (HEARD, 1999).

A região amazônica abriga uma grande variedade de ecossistemas que proporcionam uma diversidade de nichos para essas abelhas, nos quais as plantas nativas e introduzidas oferecem para a sua alimentação diversos recursos como pólen, néctar e polpa de frutas adocicadas, além de substratos para nidificação e materiais como, resinas e fibras para a construção de seus ninhos (VENTURIERI et al. 2012). A Amazônia é detentora da maior diversidade de meliponíneos do Brasil, em especial os do gênero *Melipona* (SILVEIRA et al., 2002), onde se encontram as espécies de maior porte e de vasto manejo antrópico para a produção de mel, como é o caso das espécies *Melipona seminigra* Friese 1903, *M. (Melikerreria) fasciculata* Smith 1854, *M. flavolineata* Friese 1900, *M. (Michmelia) fuscopilosa* Moure & Kerr 1950, *M. (Michmelia) lateralis* Erichson 1848, *M. (Michmelia) paraensis* Ducke 1916, entre outras, incluindo espécies ainda desconhecidas por pesquisadores, utilizadas pelos criadores em vários locais (Tabela 1).

Tabela 1: Espécies de abelhas sem ferrão que são criadas na Amazônia brasileira (adaptado de Cortopassi-Laurino, 2006).

Estados de ocorrência	Espécies
Amazonas	<i>Melipona interrupta manaosensis</i> , <i>M. seminigra merrillae</i> , <i>M. rufiventris paraenses</i> .
Pará, Maranhão	<i>Frieseomelita</i> sp., <i>M. (Melikerria) fasciculata</i> , <i>M. compressipes manaosensis</i> , <i>M. rufiventris flavolineata</i> , <i>M. melanoventer</i> , <i>M. seminigra pernigra</i> , <i>M. seminigra</i> (Tapajós sub. sp), <i>M. subnitida</i> , <i>M. flavolineata</i> , <i>Scaptotrigona nigrohirta</i> , <i>S. aff. postica</i> , <i>Tetragrona clavipes</i> , <i>Tetragonisca angustula</i> .
Acre	<i>M. crinita</i> , <i>M. eburnea fuscopilosa</i> , <i>M. flavolineata</i> , <i>M. grandis</i> , <i>Tetragonisca weyrauchi</i> .
Amapá	<i>M. compressipes fasciculata</i> , <i>M. fulva</i> .

O conhecimento das plantas fornecedoras de recursos tróficos (principalmente pólen e néctar) às abelhas é essencial para o estabelecimento de programas de conservação desses animais (CARVALHO & MARCHINI, 1999). Além disso, informações dessa natureza são importantes para a implementação de uma meliponicultura produtiva baseada na exploração racional destes organismos. A Meliponicultura, que consiste na criação racional de abelhas sem ferrão, cresceu muito nos últimos anos devido ao investimento em pesquisa, melhoramento das técnicas de manejo, difusão do conhecimento e pelo aumento no interesse pela polinização agrícola (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006). O foco dos produtores ainda é a produção de mel, que nas abelhas sem ferrão pode chegar a aproximadamente 5-6 litros por ano (VENTURIERI, 2008), dependendo da espécie, dos fatores ambientais e do manejo. Além do mel, as abelhas sem ferrão possuem outros produtos com potencial interessante, como o pólen, a cera, própolis e geoprópolis. Os meliponíneos podem produzir própolis ou geoprópolis, e a

quantidade destes produtos na colônia varia de acordo com a espécie de abelha (KERR, 1987; NOGUEIRA-NETO, 1997).

Alguns estudos desenvolvidos em formações florestais vêm indicando a importância dos meliponíneos, principalmente porque, em busca de recursos florais, as abelhas visitam um espectro diversificado de flores, transportando involuntariamente grãos de pólen, garantindo assim a reprodução das espécies vegetais. Nesse contexto os meliponíneos destacam-se, pois podem forragear nos estratos de bosque e sub-bosque da vegetação, a depender da espécie. Dessa forma, o conhecimento da flora meliponícola é imprescindível, pois, esta caracteriza as espécies vegetais que fornecem pólen e/ou néctar, recursos essenciais para a manutenção e permanência das colônias de abelhas e para a produção de mel e outros derivados. O conhecimento das plantas fornecedoras de recursos tróficos (principalmente pólen e néctar) às abelhas é essencial para o estabelecimento de programas de conservação desses animais (CARVALHO & MARCHINI, 1999). Além disso, informações dessa natureza são importantes para a implementação de uma meliponicultura produtiva baseada na exploração racional destes organismos.

O conhecimento sobre a flora, fontes de produtos apícolas ou meliponícolas, não é apenas de interesse acadêmico, podendo servir como base para padronização química dos mesmos (BANKOVA et al., 2000; SALATINO et al., 2005). A determinação da origem geográfica e, principalmente, da origem vegetal se faz importante no controle de qualidade e na padronização das amostras para uma efetiva aplicação terapêutica (PARK et al., 2002; SFORCIN & BANKOVA, 2011). No entanto, ainda são escassos os trabalhos sobre a composição química e origem botânica da geoprópolis.

Assim, o presente trabalho foi conduzido com o intuito de determinar os espectros palinológicos caracterizadores de ambientes e formações vegetais da geoprópolis de *Melipona* (*Melikeria*) *fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida* obtida de um meliponário localizado no município de Santa Luzia do Paruá, Região do Pindaré no Maranhão, e conhecer os compostos químicos presentes nessas amostras.

2. REFERENCIAL TEÓRICO:

2.1.Os Meliponíneos:

No Brasil, há uma grande variedade de trabalhos sendo realizados com as abelhas, visando-se esclarecer os mais variados aspectos de sua biologia. No entanto, observa-se que a grande maioria destes estudos concentram-se na região Sudeste a despeito de regiões que abrigam ecossistemas de grande extensão como, por exemplo, a Floresta Amazônica (Região Norte) (FREITAS et al, 2009). A subfamília Apinae (família Apidae) é um grupo muito diversificado, com ampla distribuição mundial, podendo ser encontrada em todos os continentes. Treze de suas 17 tribos são encontradas no Brasil (MICHENER, 1974; MOURE, 1951; SILVEIRA, 2002). Uma dessas tribos, conhecida como Meliponini, reúne as abelhas indígenas sem ferrão.

Inventários sistematizados no Maranhão aconteceram a partir da década de 1990, principalmente no Cerrado e na Restinga, ambientes que predominam no Estado. Foram amostrados grupos típicos da região amazônica, e outros com ampla distribuição no Neotrópico, além de elementos típicos da região mais seca do Brasil Central, o que foi atribuído à transição que caracteriza o Estado do Maranhão entre a Amazônia, o domínio dos cerrados e das caatingas nordestinas (REBELO et al., 2003). Nesses levantamentos foram encontrados Meliponini, abundantes em ambientes heterogêneos como é o caso da Baixada Maranhense, destacando-se como polinizadores mais frequentes das plantas dessa região (OLIVEIRA et al., 2010; VIDIGAL, et al., 2010).

Os Meliponini são um grande grupo monofilético altamente eussocial, encontrado em abundância nas florestas úmidas quentes ao redor do globo (MICHENER, 1974). São polinizadores indispensáveis dentro dos ecossistemas tropicais (ROUBIK, 1989; CAMARGO & PEDRO, 2008, 2013). Elas contribuem diretamente para a polinização das plantas cultivadas importantes, como morango, "cupuaçu", "camu-camu", tomate, abacate, pepino, etc., além do aumento do rendimento das culturas e melhoria da qualidade das frutas (ROUBIK, 1995; SLAA et al., 2003).

Essas abelhas são de fácil manuseio e tornaram-se uma importante fonte de renda para os apicultores nas últimas décadas, principalmente através da produção de mel e cera (NOGUEIRA-NETO, 1970, 1997; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006; CONTRERA et al, 2011; ALVES, 2013). Os aspectos históricos e socioculturais dos usos tradicionais e medicinais dos subprodutos das abelhas sem ferrão são também dignos de nota (CAMARGO & POSEY, 1990; ENGELS, 2013; JONES, 2013; OCAMPO ROSALES, 2013; QUINTAL & ROUBIK,

2013; VIT et al., 2013; ZAMORA et al., 2013). Geralmente as espécies de meliponíneos constroem seus ninhos em cavidades (que podem estar em troncos ou galhos ocos de árvores) de tamanho apropriado, com uma pequena abertura por onde entram (MICHENER, 1974; SILVEIRA, 2002). Algumas podem nidificar em buracos entre as raízes de árvores, ou mesmo no solo, em ninhos abandonados de formigas, em cupinzeiros ou em buracos feitos por roedores (MICHENER, 1974; ROUBIK, 2006). Existem, também, espécies que podem construir seus ninhos expostos, porém, protegidos por um envoltório externo produzido pelas próprias abelhas (SAKAGAMI, 1982). Em ambientes antropizados, algumas espécies nidificam em buracos de paredes, ou até mesmo em dejetos ocos como garrafas plásticas, caixas e pneus, como é o caso de *Trigona angustula* (CORTOPASSI-LAURINO, 2005; MALKOWSKI et al., 2006). Devido à sua grande relevância ecológica e comercial, estas espécies precisam ser preservadas, no entanto muitas delas estão sendo dizimadas seja pelas queimadas, desmatamento, uso incorreto e indiscriminado de agrotóxicos e/ou coleta predatória do mel (KERR et al., 2001; FREITAS et al, 2009; Rêgo et al.2008).

O gênero *Melipona* Illiger tem distribuição exclusivamente Neotropical, ocorre do México à Argentina, com maior diversificação na bacia amazônica (MICHENER, 2007). São reconhecidas 74 espécies de *Melipona* (CAMARGO & PEDRO, 2013), distribuídas em quatro subgêneros: *Melipona s. str.*; *Melikerria*; *Eomelipona* e *Michmelia* (MOURE, 1975; 1992; CAMARGO & PEDRO, 2013). A Amazônia detém a maior diversidade de meliponíneos, em especial as do gênero *Melipona* (SILVEIRA et al., 2002), onde se encontram as espécies de maior porte e de maior uso para a produção de mel. Contudo, outros gêneros de meliponíneos também são criados na região, como por exemplo, *Scaptotrigona*, *Tetragona*, *Trigona*, *Partamona* e *Tetragonisca*.

Com o crescente aumento das taxas de desmatamento na Amazônia, diversos setores da sociedade civil e do governo brasileiro têm se preocupado com a busca de alternativas ao desmatamento fomentando-se a concepção do uso sustentável dos recursos naturais amazônicos (VENTURIERI, 2008). Neste sentido, a meliponicultura tem sido utilizada como instrumento para geração de renda. Os meliponíneos são criados comercialmente em agrupamentos de colônias, denominados meliponários. Nos últimos 10 anos esses meliponários têm se espalhado muito rapidamente por toda região, gerando renda em muitas comunidades, principalmente pela produção de mel, não havendo para isso a necessidade da remoção da cobertura vegetal nativa (KERR, 1997; NOGUEIRA-NETO, 1997; CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006; VENTURIERI, 2008).

A escassez de conhecimentos sobre a biologia de Meliponini é um dos fatores limitantes para a sua criação racional e, conseqüentemente, para a sua preservação. Conhecimentos sobre manejo e aspectos biológicos das abelhas sem ferrão são de grande importância para que sejam implantadas estratégias de conservação. Dados sobre manejo, reprodução controlada, divisão e controle de meliponíneos foi ressaltado por autores como Aidar (1994, 1996), Kerr et al. (1996, 2001), Nogueira-Neto (1970,1997), Gutiérrez et al. (2002), dentre outros. Trabalhos referentes à biologia geral de algumas espécies de Meliponini foram realizados por Kerr (1945, 1946, 1948), Nogueira-Neto (1970,1997), Michener (1974), Sakagami (1982), Wille (1983), Van Benthien et al. (1995), Kerr et al. (1996) e Velthuis (1997).

No presente trabalho, foram estudadas quatro espécies de Meliponini:

1. *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854, conhecida popularmente como “tiúba” ou “uruçu cinzenta”, nativa do Maranhão, Pará e Tocantins. É uma espécie amplamente manipulada pelo homem: produz mel, armazena pólen e produz geoprópolis, no entanto em baixas quantidades e com sua composição raramente estudada, pouco se conhecendo sobre o seu hábito alimentar (KERR et al., 2001). No Maranhão, a criação da espécie *M. fasciculata*, desempenha um importante papel econômico como fonte complementar de renda, principalmente, para as famílias de baixo poder aquisitivo do interior do Estado (BEZERRA, 2004). A maioria das colônias é transferida para caixas “caboclas” (caixas rústicas sem nenhuma padronização), outras, porém, são criadas no próprio tronco da árvore em que foram encontradas. O manejo dessas abelhas é feito com informações que os criadores adquiriram e vão passando de geração a geração, sendo poucos os que recebem um apoio técnico especializado. Devido ao acelerado processo de desmatamento local, a tiúba vem sofrendo grande risco de extinção (BEZERRA, 2004). Sabe-se que ela nidifica em troncos de árvores com diâmetros mais alargados. Mas, para que as árvores possam abrigar os ninhos dessa espécie, é preciso que elas atinjam grande porte, o que a maioria das vezes não acontece, principalmente pelos frequentes cortes a que são submetidas na região (VENTURIERI, 2009). A ausência ou pequena representatividade dessa espécie nos diversos inventários de abelhas já realizados no Maranhão (RÊBELO et al., 2003; RÊGO et al., 2008), provavelmente é resultado da destruição de seus habitats.
2. *Melipona (Michmelia) seminigra* Friese 1903, conhecida como uruçu-boca-de-renda, é uma espécie politípica com ampla distribuição na bacia amazônica (SCHWARZ, 1932; MOURE & KERR, 1950; CAMARGO & PEDRO, 2013) e muito promissora para a

produção de mel e utilização na polinização (GONDIM, 1984). Encontrada nas regiões do Amazonas, Acre, Mato Grosso e Pará (SILVEIRA, 2002). *Melipona (Michmelia) seminigra merrillae* Cockerell 1919, é uma espécie abundante na Amazônia central (SCHWARZ, 1932), e endêmica da região Amazônica (CAMARGO & PEDRO, 2008). É um complexo de pelo menos sete subespécies, sendo muito importante para atividades de conservação e desenvolvimento econômico regional (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006). *M. seminigra* tem importância como polinizador da flora nativa nos ecossistemas da Amazônia e de plantas cultivadas (CARVALHO-ZILSE, 2005) e na dispersão de sementes (BACELAR-LIMA et al., 2006; NUNEZ et al., 2008); é a principal espécie de abelha sem ferrão criada na Amazônia Brasileira, como alternativa econômica (CORTOPASSI-LAURINO et al., 2006) e com o objetivo de preservação (CARVALHO-ZILSE & NUNES-SILVA, 2012). Em 1967, Kerr et al. identificaram a abelha *M. seminigra* da região de Manaus, como sendo, provavelmente, o meliponíneo com maior número de qualidades para ser domesticado pelo homem. Absy & Kerr (1977) estudaram o pólen transportado por 267 operárias de *M. seminigra* em Manaus. No Estado do Maranhão até o presente não há trabalhos referentes a essa espécie de abelha.

3. *Melipona flavolineata* Friese 1900, conhecida popularmente como “uruçu amarela”, é uma das espécies de abelha sem ferrão mais criadas por agricultores familiares no nordeste do Estado do Pará (VENTURIERI, 2004). Esta espécie apresenta ocorrência natural nos Estados do Amazonas, Pará, Maranhão e Tocantins (SILVEIRA et al., 2002), com relatos no Maranhão por Ducke (1910) e Schwarz (1932). No entanto até o presente não há dados referentes à biologia e recursos utilizados por essa abelha no Estado do Maranhão.
4. *Melipona subnitida* Ducke 1910, conhecida localmente como jandaíra, foi registrada pela primeira vez no Maranhão, no município de Alcântara (DUCKE, 1910). É considerada espécie rara no Maranhão apesar dos levantamentos realizados, em diferentes ecossistemas do estado (GONÇALVES et al., 1996; RÊBELO et al. 2003). Era encontrada em toda a região Nordeste, mas atualmente é menos frequente e com populações desequilibradas. Entre os meliponíneos nativos do Nordeste brasileiro, a jandaíra é uma das espécies mais indicadas para a criação racional com fins lucrativos, mas o extrativismo predatório e o desmatamento são as principais causas do declínio do número de colônias silvestres dessa espécie (CRUZ et al.,

2004). No Estado do Maranhão, esta espécie ocorre em uma área de restinga no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses (RÊGO & ALBUQUERQUE, 2006) e no Delta do Parnaíba (SILVA et al., 2014). *M. subnitida* é de grande importância para a polinização da flora nativa (FERRAZ et al., 2008; PINTO et al., 2014; SILVA et al., 2014) e das plantas cultivadas (CRUZ et al., 2004; SILVA et al., 2005) e é tradicionalmente criada para produção de mel, que tem um alto valor econômico.

2.2. Própolis X Geoprópolis:

A própolis é um dos produtos naturais mais utilizados pela humanidade (VARGAS et al., 2004). Os egípcios já conheciam as propriedades anti-putrefativas da própolis e a empregavam para embalsamar cadáveres. Foram reconhecidas por suas propriedades medicinais por médicos gregos e romanos como Aristóteles, Dioscorides, Plínio e Galeno (CAPASSO & CASTALDO, 2002). O uso de extratos de própolis na medicina popular data de 300 a.C. (DA SILVA et al., 2006). Os Incas empregaram-na como um agente anti-pirético e a farmacopéia de Londres do século XVII listou a própolis como uma droga oficial. Entre os séculos XVII e XX, a própolis tornou-se muito popular na Europa por causa de sua atividade antibacteriana (CAPASSO & CASTALDO, 2002). Nos países do oeste europeu, na América e no Japão, a própolis só adquiriu popularidade a partir de 1980. Na metade dos anos 80, tornou-se um importante produto na medicina alternativa e complementar (SALATINO et al., 2005), pois apresenta inúmeras propriedades terapêuticas e farmacológicas, tais como a imunomoduladora, antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória, antioxidantes, entre outras (SFORCIN, 2009).

Visando a proteção das colmeias, as abelhas preparam uma substância denominada própolis, que deriva do grego pro- “em defesa” e polis- “cidade ou colmeias” (PEREIRA et al., 2002). É um produto apícola elaborado a partir de material resinoso, gomoso e balsâmico coletado das plantas pelas abelhas, que as modificam acrescentando secreções salivares, cera e pólen (MARCUCCI, 1996; MAPA, 2001; MARCUCCI et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2003; SALATINO et al., 2005; SALATINO et al., 2011). São utilizadas para diversos propósitos na colmeia, como selar orifícios, o que evita a entrada de intrusos e mantém a temperatura da colmeia em torno de 35 °C, e revestir a parede interna dos opérculos, criando não só uma barreira física como um ambiente asséptico para o desenvolvimento das larvas, possível em

razão da ação antimicrobiana de certos componentes da própolis (SALATINO et al., 2005; FREITAS et al., 2010).

As abelhas coletam as resinas, botões florais ou brotos dos vegetais utilizando suas mandíbulas e patas. A resina é retirada aos pedaços com as mandíbulas, manuseada com o primeiro par de pernas e depois depositada na corbícula (que é uma modificação no terceiro par de pernas que permite o transporte de cargas de pólen e própolis). A resina é transportada pelas campeiras até a colmeia na forma de uma “bolota” e repassada a outras operárias que a utilizarão nos locais necessários (NOGUEIRA-NETO, 1997).

A coleta de resina pelas abelhas está condicionada às necessidades da colmeia e também às condições ambientais tais como: temperatura, pluviosidade, umidade relativa, evaporação e insolação, sendo sua produção mais afetada pelas condições do meio ambiente do que pelo grau de desenvolvimento da colônia (MOURA, 2001). Não são conhecidos os fatores que direcionam a preferência das abelhas coletoras de resina por uma determinada fonte vegetal, mas se sabe que elas apresentam um comportamento de seletividade nesta coleta (SALATINO et al., 2005; TEIXEIRA et al., 2005).

A própolis é um composto que resulta de uma mistura de várias substâncias tais como: vitaminas, sais minerais, compostos fenólicos como os flavonoides, ácidos graxos, ácidos cinâmicos, ácidos cafêicos, aminoácidos, álcoois aromáticos e ésteres, além de ceras, pólen, substâncias voláteis e substâncias ainda desconhecidas. No entanto, umas das questões mais importantes a ser considerada em relação a essa substância, é que, a mesma não apresenta uma característica padronizada quanto aos seus constituintes e esses podem sofrer grandes variações de acordo com a região, a flora e a época do ano que ela está sendo produzida pelas abelhas (PEREIRA, 2012).

A mistura de resina de exsudados, originado a partir de várias fontes vegetais, misturado com cera e fragmentos de areia, difere da própolis de *Apis mellifera*, devido à presença de partículas de argila e ausência de tricomas vegetais (BARTH & LUZ, 2003). Assim, a geoprópolis diferencia-se da própolis, pois apresenta sedimento de terra ou barro usado na sua elaboração (BARTH, 1998; BARTH et al., 1999; BARTH & LUZ, 2003), tendo sido denominada por Nogueira-Neto (1962) para distinguir o tipo especial de própolis preparada por muitas abelhas sem ferrão, como: Uruçu nordestina (*Melipona scutellaris*), Manduri (*M. marginata*), Mandaçaia (*M. quadrifasciata*), Jandaíra (*M. subnitida*), Tujuba (*Melipona rufiventris mondury*), Tiúba (*Melipona fasciculata*) dentre outras (NOGUEIRA-NETO, 1997).

2.3. Palinologia como ferramenta para origem fitogeográfica e botânica da geoprópolis de abelhas sem ferrão:

O espectro polínico da geoprópolis é um excelente indicador fitogeográfico, pois fornece uma imagem da vegetação anemófila e entomófila da área de produção. Tendo em vista que cerca de 5% do peso da geoprópolis é formado por grãos de pólen que participam como contaminantes no produto, pois se aderem às resinas quando carregados pelos ventos e também dentro das colméias, provenientes dos estoques alimentares (BARTH et al., 1999; BARTH & LUZ, 2003).

A certificação da origem botânica da geoprópolis somente pode ser comprovada quando vários métodos são adotados em conjunto com a análise palinológica tais como: levantamento florístico das áreas de alocação das colméias com relação às principais fontes de resinas; observação do comportamento de coleta de matéria-prima pelas abelhas em campo; análise dos perfis físico-químicos das amostras e a observação das estruturas anatômicas vegetais presentes em sua composição (LUZ et al., 2009). A análise palinológica torna-se um instrumento valioso na determinação das origens geográficas das diversas amostras, visualizando-se o conjunto de diversos tipos polínicos, o que permite fazer a distinção entre as diferentes regiões produtoras, oferecendo resultados que podem ser usados para a verificação e rotulagem das mesmas (D'ALBORE, 1979; GHISALBERTI, 1979; BARTH, 1998; BARTH et al., 1999).

Análises polínicas de amostras de própolis foram realizadas principalmente por D'Albore (1979), que analisou 56 amostras de diversos países, e Warakomska & Maciejewicz (1992), que analisaram a própolis de regiões polonesas. No Brasil alguns estudos também já foram realizados, em particular, as análises realizadas por Barth (1998), Barth et al. (1999), Bastos (2001), Barth & Luz (2009), Luz & Barth (2009), Freitas et al. (2010), Freitas et al. (2011) e Matos et al. (2014). Porém são escassos os estudos sobre a análise palinológica de amostras de geoprópolis, destacando-se: Barth & Luz (2003) que estudaram oito amostras de geoprópolis de quatro espécies de abelhas do Espírito Santo, Minas Gerais e São Paulo onde o Pólen Dominante (PD= >45% do total contado) foi *Eucalyptus* para as amostras de *Melipona quadrifasciata* e *Schinus* para *Tetragonisca angustula*. Na categoria de Pólen Acessório (PA= 15 à 45% do total contado) ocorreram os tipos polínicos *Myrcia* e *Melastomataceae/Combretum*. No entanto, houve demonstração das diferenças fitogeográficas das áreas de coleta das amostras de geoprópolis. Em Barth (2006) foram analisadas seis amostras de geoprópolis de seis diferentes espécies de abelhas indígenas de ninhos localizados em Ribeirão Preto, São Paulo. Apesar de produzidas num mesmo local, a diversidade polínica

foi grande entre as amostras, sendo muito frequente o pólen de *Eucalyptus* na geoprópolis de *Trigona recurva*. As outras amostras destacaram como importantes, *Eucalyptus* nas amostras de *Lestrimellita* cfr *limao* e *Nannotrigona testaceicornis*; *Mimosa scabrella* nas de *Melipona quadrifasciata*; *Cecropia* nas de *Trigona angustula* e, *Piper* nas de *Nannotrigona testaceicornis*. Essa variação entre a geoprópolis das diferentes espécies de abelhas demonstrou as preferências tróficas de cada espécie. Em Barth et al. (2009) foram analisadas quatro amostras de geoprópolis arqueológica de Januária, Minas Gerais, as espécies de abelhas indígenas que produziram a geoprópolis fossilizada não foram identificadas, mas o espectro polínico refletiu a vegetação local com Arecaceae (diversas palmeiras), *Anacardium* e *Spondias* (Anacardiaceae). Já Freitas et al. (2012) estudaram dezesseis amostras de geoprópolis de dez espécies de abelhas do Paraná no Brasil, da Bolívia e Venezuela. Como era esperado pela ampla variedade de tipos de vegetação das áreas de coleta das amostras de geoprópolis, a análise polínica desses autores demonstrou uma grande diversidade polínica e uma rara sobreposição de taxa, mesmo entre amostras da mesma espécie de abelha, demonstrando os ambientes fitogeográficos de cada local de cada meliponário. Freitas et al. (2013) estudaram amostras de geoprópolis e própolis de abelhas sem ferrão, entre as quatro geoprópolis brasileiras analisadas, duas regiões tiveram como grão de polens dominantes para a família Melastomataceae (*Melipona*) e dois grãos de pólen acessórios de Arecaceae e *Cecropia* (*Tetragonisca angustula*). Entre as quatro da Bolívia, as quatro geoprópolis da Venezuela e oito própolis do Brasil foram como pólen dominante Solanaceae (*Melipona grandis*, Bolívia), Melastomataceae (*Melipona quadrifasciata* e *Melipona mondury*, Brasil) e *Melochia* (Sterculiaceae (*Tetragona clavipes*, Venezuela), Barros et al. (2013) estudaram dezesseis amostras da geoprópolis de *Melipona fasciculata* do Estado do Maranhão em regiões de restinga, cerrado e campus periodicamente inundados. Onde houve dominância do pólen de *Mimosa pudica* e *M. caesalpiniaefolia* em várias amostras das geoprópolis analisadas. Na área de Campos periodicamente inundados foram, por ordem de importância, os de *Mimosa pudica*, *M. caesalpiniaefolia*, *Eucalyptus* e Euphorbiaceae. No Cerrado foram *M. pudica*, *M. caesalpiniaefolia*, *Chamaecrista*, *Bauhinia*, *Erechtites*, *Eucalyptus* e Euphorbiaceae e na Restinga *Solanum*, *Chamaecrista*, *Protium*, *Psidium*, Arecaceae, *Desmodium*, *Mauritia* e Meliaceae (Povoado de Preazinho). *Combretum*/Melastomataceae, *Chamaecrista*, *Protium*, *Ardisia*, *Solanum* e *Psidium* os mais frequentes no povoado de Boa Vista. Apesar das amostras terem sido coletadas no mês de agosto de 2011, as mesmas apresentaram similaridade distinta na ocorrência dos tipos polínicos. Ribeiro et al. (2016) analisou 120 amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* coletadas

durante um ano em Palmeirândia (Vegetação de Campos periodicamente inundados) e Barreirinhas (vegetação de Cerrado) no Estado do Maranhão. Um total de 121 tipos polínicos foram identificados distribuídos em 52 famílias e 84 gêneros, cujos tipos predominantes (>45 %) foram *Adenocalymma inundatum* (Bignoniaceae), *Bauhinia reflexa* (Caesalpiniaceae), *Caryocar* (Caryocaraceae), *Chamaecrista* (Fabaceae), *Lafoensia* (Lythraceae), *Mauritia* (Arecaceae), *Machaerium* (Fabaceae), *Mimosa pudica* (Mimosaceae), e *Ouratea* (Ochnaceae), com vários tipos exclusivos para cada ambiente, caracterizando fitogeograficamente as amostras e os indicadores sazonais de floração das espécies ocorrentes nas áreas estudadas.

Esses estudos levam-nos a perceber a importância da observação do pólen de espécies produtoras de resina na geoprópolis, que pode ser um excelente indicador das plantas visitadas pelas abelhas em busca dessa matéria prima. O espectro polínico da geoprópolis das abelhas nativas da tribo Meliponini é bastante abrangente, incluindo um grande número de tipos polínicos tanto anemófilos quanto entomófilos, mas o fator médio de concordância desses tipos polínicos é inferior para as amostras de diferentes origens regionais e é maior para as amostras de uma mesma região (BARTH, 2006), o que corrobora o uso da análise palinológica para a certificação fitogeográfica das amostras.

2.4. Composição química e atividades Biológicas da Própolis e Geoprópolis:

A constituição química da própolis brasileira é bastante distinta das demais própolis do resto do mundo (MARCUCCI, 1998; MARCUCCI et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2003; SALATINO et al., 2005; SALATINO et al., 2011; SFORCIN, 2016). Mais de 300 componentes já foram identificados em diferentes amostras de própolis que, de modo geral, contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 5-10% de óleos essenciais, 5% de grãos de pólen, além de pequenas quantidades de alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6), ácido nicotínico (B3), ácido ascórbico (C), alfatocoferol (E) e ácido pantotênico (B5) (GHISALBERTI et al., 1979; de CASTRO, 2001).

Nas últimas décadas, a própolis tem despertado o interesse da sociedade por apresentar inúmeras propriedades terapêuticas e farmacológicas (SFORCIN, 2016). Estas propriedades dependem da origem botânica da própolis, implicando maior ou menor valorização comercial. A sua comercialização tem sido realizada intensamente nos últimos anos, sendo empregada especialmente pela indústria farmacêutica (BANSKOTA et al., 2001), onde a própolis pode ser encontrada na composição de cápsulas (pura ou combinada), tinturas, antissépticos bucais,

pastilhas e cremes. Além disso a propólis é usada na produção de cosméticos e como constituinte de alimentos naturais (CASCALDO & CAPASSO, 2002).

Como mencionado acima, a composição química da propólis é determinada basicamente pelo perfil químico da flora visitada pelas abelhas, fazendo desse produto uma amostra bastante complexa e de difícil padronização (BANKOVA et al., 2005). Entre as fontes vegetais da própolis brasileira estão *Baccharis* spp., particularmente *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo); *Dalbergia ecastophyllum* (rabo-de-bugio); *Araucaria angustifolia* (pinheiro brasileiro); e o *Eucalyptus citriodora* (eucalipto) (BANKOVA et al., 2005; SILVA et al., 2008). De acordo com Popova et al. (2007) as maiores fontes de resina para a própolis tem sido os botões florais de *Populus* na Europa, botões apicais de *B. dracunculifolia* no sudeste do Brasil (SALATINO et al., 2005), secreções de flores de *Clusia major* e *Clusia minor* na Venezuela, e *Clusia nemorosa* em Cuba (CUESTA-RUBIO et al., 2007; TRUSHEVA et al., 2004). Para a Amazônia, análises químicas de amostras de própolis realizadas por Ishida et al. (2011) revelaram benzofenonas (uma cetona aromática) típicas de metabólitos da família Clusiaceae e os autores aventaram a origem a partir de resinas florais de várias espécies de *Clusia*, como, *Clusia burchellii* espécime masculino, *C. grandiflora* espécimes feminino e masculino, *Clusia lanceolata* espécime masculino e *C. nemorosa* hermafrodita.

O interesse sobre as propriedades biológicas e a composição química dos produtos de abelha sem ferrão também tem aumentado nos últimos anos. No entanto, em relação à geoprópolis, os estudos ainda são escassos. Os poucos estudos disponíveis na literatura têm mostrado que este subproduto possui atividade antibacteriana e antioxidante e contém uma alta concentração de compostos fenólicos e flavonoides (POPOVA, 2007; DUTRA et al., 2008; MANRIQUE & SANTANA, 2008; DUTRA et al., 2014; BATISTA et al., 2016).

Tomas-Barberan et al. (1993) descreveram os compostos fenólicos de geoprópolis de cinco espécies de abelhas da Venezuela. Bankova et al. (1998) identificaram mais de cinquenta compostos, principalmente fenólicos e terpênicos de geoprópolis brasileira, produzida por três espécies de meliponíneos. Manrique & Santana (2008) estudaram os flavonoides, assim como avaliaram a atividade antimicrobiana e antioxidante da geoprópolis de abelhas sem ferrão da Venezuela e Brasil. Já Duailibe et al. (2004) observaram que o bochecho com a solução do extrato alcoólico de geoprópolis da tíuba (*Melipona (Melikerria) fasciculata* 1854) diminuiu em 48,5% o número de colônias de *Streptococcus mutans* na saliva de pacientes, o que indica um excelente auxiliar no tratamento e prevenção de cáries. Dutra et al. (2008) comprovaram que amostras de geoprópolis da *M. fasciculata* oriundas da região da Baixada Maranhense

possuem alto teor de flavonoides e sugeriram que as variações qualitativa e quantitativa desses flavonoides e de outros constituintes químicos presentes nas várias amostras analisadas são afetadas pela flora visitada pelas abelhas, região geográfica e fatores ambientais. Onze compostos pertencentes às classes de ácidos fenólicos e taninos hidrolizáveis foram identificados e relacionados com a atividade antioxidante e o alto conteúdo fenólico na geoprópolis de *M. fasciculata* por Dutra et al. (2014). Cinegaglia et al. (2013), perceberam o efeito da geoprópolis de abelhas sem ferrão sobre osteosarcoma canino. Libério et al. (2011) avaliaram a concentração de citocinas no soro de ratos que receberam um gel preparado com geoprópolis produzidos por *M. fasciculata* na cavidade oral e exerceu ação antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. Freitas et al. (2008) fez a análise química do extrato etanólico da geoprópolis do ninho de *Trigona spinipes* e sugeriu o exsudado de *Eucalyptus* como uma origem botânica dos constituintes de ninho desta espécie. Em relação à atividade anti-tumoral, Araújo et al. (2010 e 2011) investigaram os efeitos da própolis produzida por *Scaptotrigona aff. postica* sobre o desenvolvimento do tumor de *Ehrlich* em camundongos, a própolis inibiu a crescimento do tumor e aumentou o número de células na medula óssea e baço além de que os extratos hidroalcoólicos apresentaram baixa toxicidade quando utilizado por via oral, mesmo em altas doses. Araújo et al. (2015) estudando a composição química e atividades farmacológicas de geoprópolis produzida por *M. fasciculata* verificou que exibiu atividade antitumoral e imunomoduladora e que suas propriedades biológicas podem ser devidas a triterpenos (um dos principais constituintes químicos). Borges et al. (2011) também observaram a ação anti-proliferativa de própolis produzidos por *Scaptotrigona* spp. em glioblastoma humano. Abreu (2011) analisou a composição química de três amostras de geoprópolis produzida por *M. fasciculata*, oriundas dos municípios de São Bento e São João Batista, localizados no estado do Maranhão. Silva (2013) estudou a composição química e atividade biológica da geoprópolis produzida por *Melipona interrupta* e *Melipona seminigra* na região Amazônica. Também foi analisada a composição química da própolis de *M. compressipes* por CG-MS e foram observados a presença de álcoois, fenóis, aldeídos, ésteres e alguns ácidos graxos saturados (BANKOVA et al., 1999).

O conhecimento acerca da composição química e das atividades biológicas da geoprópolis é de extrema relevância, contribuindo para o estabelecimento do controle de qualidade deste produto e de uma legislação específica, além de conscientizar a população sobre a importância da conservação das abelhas nativas, valorizando importantes produtos que compõem a nossa biodiversidade.

2.5. Atividades Químicas:

2.5.1 Atividade antioxidante:

Os antioxidantes são capazes de inibir a oxidação de diversos substratos, de moléculas simples a polímeros e biosistemas complexos, por meio de dois mecanismos: o primeiro envolve a inibição da formação de radicais livres que possibilitam a etapa de iniciação; o segundo abrange a eliminação de radicais importantes na etapa de propagação, como alcóxila e peróxila, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (NAMIKI, 1990). Os métodos de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e o de inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico vem sendo os mais utilizados para avaliação da atividade antioxidante de extratos de própolis (MARQUELE et al., 2005).

A atividade sequestradora do radical DPPH de extratos aquosos de própolis verde e marrom foram maiores quando comparados a extratos metanólicos do mesmo tipo de própolis (BANSKOTA et al., 2000). Sheng et al. (2007), estudando o potencial antioxidante de diferentes extratos obtidos através da própolis brasileira, adotando-se o método DPPH e tiocianato férrico, verificaram que o extrato etanólico exibiu maior atividade que o extrato éter de petróleo nos dois métodos. Fabris et al. (2013), comparando a própolis da Rússia, Itália e Brasil, demonstrou que as amostras brasileiras apresentaram menores valores de concentração capaz de inibir em 50% o radical DPPH (IC₅₀%). Dentre essas amostras, a própolis verde exibiu maior potencial antioxidante, quando comparada as própolis do Pantanal e de São Paulo (FABRIS et al., 2013). Cabral et al. (2009) apontam que frações hexânicas apresentam maior atividade antioxidante (74,4%), através do método de sequestro de radical DPPH. Já no método de inibição da oxidação pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico, a fração clorofórmica apresentou maior atividade (64,84%), concluindo que existe uma maior correlação entre o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante pela oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico. Oldoni et al. (2011), após o isolamento de compostos da fração clorofórmica, os isoflavonoides vestitol e neovestitol e a chalcona isoliquiritigenina, constataram que o vestitol foi o que apresentou maior atividade antioxidante frente aos demais, também através do método β -caroteno/ácido linoleico. A ação antioxidante apresenta uma correlação de extrema ligação com as propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias como visto por Sartori et al. (2011), onde a própolis marrom atuou reduzindo os danos histológicos e lesões causados pela infecção pelo vírus Herpes simplex tipo 2 (HSV-2), nos tecidos genitais de animais, tendo ação em processos oxidativos e inflamatórios.

2.5.2 Compostos Fenólicos:

Os compostos fenólicos possuem um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxila. São amplamente distribuídos no reino vegetal e são os metabólitos secundários mais abundantes, com mais de 8.000 estruturas fenólicas atualmente conhecidas, que vão desde moléculas simples como ácidos fenólicos a substâncias altamente polimerizadas, como taninos (DAI & MUMPER, 2010). Os flavonoides, estilbenos e lignanas também são compostos fenólicos encontrados nas plantas.

Os ácidos fenólicos podem ser divididos em duas classes: derivados do ácido benzóico, como o ácido gálico, e derivados do ácido cinâmico, como ácido cumárico, cafeico e ferúlico. O ácido cafeico é o ácido fenólico mais abundante em muitas plantas, mais frequentemente esterificado com ácido quínico como ácido clorogênico (GHASEMZADEH & GHASEMZADEH, 2011; DAI & MUMPER, 2010).

Substâncias da classe dos compostos fenólicos são comuns em produtos de abelha, como os ácidos gálico, elágico e protocatecuico (DUTRA et al., 2014; BATISTA et al., 2016). A própolis brasileira produzida no cerrado é rica em derivados prenilados do ácido-p-cumárico (MARCUCCI & BANKOVA 1999).

2.5.3 Flavonoides:

Os flavonoides são substâncias aromáticas com 15 átomos de carbono no seu esqueleto básico, compostos do tipo C6-C3-C6, onde os dois anéis C6 são necessariamente aromáticos (anéis A e B), conectados por uma ponte de três carbonos, que geralmente contém um átomo de oxigênio (anel C) (RICE-EVANS, 2004; LOPES et al., 2000; PETERSON & DWYER, 1998). Esse composto, absorve radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) e do visível e, dessa maneira, apresenta papel de defesa nas plantas frente à radiação UV da luz solar. Além disso, os flavonoides podem representar barreira química de defesa contra micro-organismos (bactérias, fungos e vírus), insetos e animais herbívoros. Também possuem a capacidade de regular determinadas reações enzimáticas e prover “flavor” a produtos usados para consumo humano (COOPERDRIVER, 2001). Os flavonoides também proporcionam relacionamentos harmônicos entre insetos e plantas, por meio da orientação destes até o néctar, contribuindo assim significativamente com o processo de polinização (MARCUCCI, 1996).

Inúmeros estudos conduzidos nos últimos anos relatam o importante papel dos flavonoides na saúde humana. Propriedades como atividade antioxidante, antifúngica,

antiprotozoários, antivirais, anti-inflamatória, antimicrobiana, anticancerígena, entre outras, têm sido relatadas na literatura (MALESEV et al. 2007; HARBONE et al. 2000).

Em amostras de própolis já foram identificados os flavonóis galangina, canferol, quercetina e miricetina (CASTALDO & CAPASSO 2002; AMOROS et al. 1992; CUSHNIE & LAMB, 2005), algumas flavonas, como crisina, apigenina, luteolina e tectocrisina, e as flavanonas pinocembrina, isosacuranetina, naringenina (CASTALDO & CAPASSO 2002; AMOROS et al. 1992; CUSHNIE & LAMB, 2005). Em geoprópolis os principais constituintes foram carboidratos e seus derivados, triterpenos, ácido anacárdico e alcoois (ARAÚJO et al. 2015).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAL

Determinar os espectros palinológicos caracterizadores de ambientes e formações vegetais da geoprópolis de *Melipona (Melikeria) fasciculata*, *Melipona flavolineata*, *Melipona seminigra* e *Melipona subnitida* conjugando-se com a análise química, a fim de estabelecer critérios de diferenciação entre as amostras para auxiliar na sua certificação e seu reconhecimento fitogeográfico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- € Identificar as possíveis plantas que contribuem com substâncias para a formação da geoprópolis de quatro espécies de abelhas sem ferrão do Estado do Maranhão a partir da identificação de grãos de pólen e elementos figurados presentes em amostras selecionadas e que possam ser oriundos de espécies que produzem a matéria-prima;
- € Quantificar os teores de compostos fenólicos no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de Meliponini;
- € Quantificar os teores de flavonóides no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de Meliponini;
- € Caracterizar a atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos da geoprópolis de quatro espécies de abelhas sem ferrão do Estado do Maranhão;

- € Contribuir com informações científicas para a produção de geoprópolis de abelhas sem ferrão dentro de padrões de qualidade.

4. JUSTIFICATIVA:

Considerando-se a diversidade da flora brasileira produtora de matéria-prima para produção de geoprópolis fica evidente que os conhecimentos científicos acerca da sua origem botânica e geográfica precisam ser expandidos, especialmente no Maranhão, onde estudos com esse intuito ainda são incipientes. Com o crescente interesse internacional e do mercado brasileiro por derivados apícolas, incentiva-se a caracterização palinológica da geoprópolis, assim como a investigação da sua constituição química, para que o controle da qualidade deste produto tenha uma melhor resolução, ampliando-se as perspectivas comerciais maranhenses.

Ressalta-se que os conhecimentos originados na presente proposta sobre a geoprópolis maranhense não serão unicamente de interesse acadêmico, pois permitirão gerar informações dos locais mais adequados para alocação de colônias destinadas a sua produção. Ainda, a associação destes conhecimentos a estudos fitoquímicos específicos possibilitará a predição da composição aproximada da geoprópolis maranhense a ser disponibilizada no mercado, conferindo certificação de qualidade e de sua origem.

O Maranhão, assim como os demais estados do Nordeste, apresenta um grande potencial na produção de mel, pólen e geoprópolis. Estima-se que, em todo o Nordeste, a produção atual desses produtos poderia ser quintuplicada com o desenvolvimento de projetos em escala comercial e industrial. Dentre as abelhas utilizadas para produção de mel e outros produtos no Maranhão, destaca-se os meliponíneos, que possuem valor de mercado pelos produtos oferecidos, facilidade e menor custo de manejo. A criação dessas abelhas sem ferrão é feita em cabaças, cortiços e caixas rústicas, que constitui uma atividade tradicional em quase todas as regiões do Brasil. Essa atividade, desenvolvida inicialmente pelos índios, foi ao longo do tempo praticada por pequenos e médios produtores rurais e hoje vem despertando o interesse de novos criadores e também de algumas instituições (Silva 2001). Dentre essas abelhas sem ferrão do Maranhão podemos destacar *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.

Embora o Maranhão apresente um grande potencial produtivo de derivados apícolas, tanto por sua biodiversidade vegetal quanto pelas inúmeras espécies de abelhas nativas existentes, a criação de abelhas com a finalidade comercial ainda se encontra em situação rudimentar. Além disso, a própolis e o mel maranhenses em sua maioria são produzidos por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). Porém, a criação dessas abelhas exóticas pode provocar interferência quanto aos recursos vegetais utilizados pelos meliponíneos, e por isso alguns estudos estão sendo realizados para avaliar o grau de competição entre elas. Assim também, uma série de projetos está sendo implantada em todo Brasil para incentivar a ampliação da criação de meliponíneos devido ao seu valor econômico e ecológico essencial para a manutenção das florestas nativas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABSY, M.L.; KERR, W.E. Algumas plantas visitadas para obtenção de pólen por operárias de *Melipona seminigra* Merrillae em Manaus. **Acta Amazonica**, 7,3, 309-315.1977.

AIDAR, D.S. **Biologia, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. Universidade Federal de Viçosa (UFV)- Viçosa, 138p. (Dissertação de mestrado). 1994.

AIDAR, D. S. 1996. **A mandaçaia**. Série Monografias nº 4. Ed. SBG, Ribeirão Preto, SP. 103p.1996.

ABREU, B.V.B. **Prospecção química de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith**. São Luis, 53p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)- Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão. 2011.

ALVES, R.M.O. PRODUCTION and market of pot-honey. In: P. Vit; S.R.M. Pedro & D.W. Roubik (Eds.), Pot- Honey: A legacy of stingless bees, 113-124). **New York: Springer**. 2013.

AMOROS, M., SAUVAGER, F., GIRRE, L., & CORMIER, M. In vitro antiviral activity of propolis. **Apidologie**, 23(3), 231-240. 1992.

ARAÚJO, M.J.A.M.; DUTRA, R.P.; COSTA, G.C.; REIS, A.S.; ASSUNÇÃO, A.K.M.; LIBÉRIO, 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 *Scaptotrigona aff. postica* sobre o desenvolvimento do tumor de Ehrlich em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20, 580-587. 2010.

ARAÚJO, M. J. A. M., MATTAR, N. S., REIS, A. S., SERRA, I. C. P. B., FIALHO, E. M. S., Assunção, A. K. M. & Lopes, A. S. (2011). Pharmacognostic and acute toxicological evaluation

of *Scaptotrigona* aff. *postica* propolis extract in pre-clinical assays. **Natural product research**, 25(11), 1037-1046.

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

BACELAR-LIMA, C. G., D. C. B. FREIRE, A. COLETO-SILVA, K. B COSTA, J. P. B. LARAY, H. C. VILAS-BOAS, AND G. A. CARVALHO-ZILSE. Melitocoria of *Zygia racemosa* (Ducke) Barneby and Grimes by *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 and *Melipona compressipes manausensis* Schwarz, 1932 (Hymenoptera, Meliponina) in Central Amazon, Brazil, **Acta Amazonica**, 36, 343-348, 2006.

BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; MARCUCCI, M. C.; POPOV, S. Constituents of Brazilian geopropolis. **Z Naturforschung**, 53, 402-406.1998.

BANKOVA, V., BOUDOUROVA-KRASTEVA, G., SFORCIN, J. M., FRETE, X., KUJUMGIEV, A., MAIMONI-RODELLA, R., & POPOV, S. Phytochemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis from São Paulo State. **Zeitschrift für Naturforschung C**, 54(5-6), 401-405.1999.

BANKOVA, VASSYA S.; DE CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, 31,1, 3-16. 2000.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacol**, 100, 114-117.2005.

BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytother Res**, 15: 561-571.2001.

BANSKOTA, A. H., TEZUKA, Y., ADNYANA, I. K., MIDORIKAWA, K., MATSUSHIGE, K., MESSAGE, D. & KADOTA, S. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. **Journal of Ethnopharmacology**, 72(1), 239-246. 2000.

BARTH, O.M. Pollen analysis of Brazilian propolis. **Grana**, 37,97-101.1998.

BARTH, O. M., DUTRA, V. M. L, JUSTO, R. L. Análise polínica de algumas amostras de propolis do Brasil Meridional. **Ciência Rural**, Santa Maria, 29, 663-667.1999.

BARTH, O.M.; LUZ, C.F.P. Palynological analysis of Brazilian geoprópolis sediments. **Grana**, 42, 121-127.2003.

BARTH, O.M. Palynological analysis of geopropolis samples obtained from six species of Meliponinae in the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil. **Apiacta**, 41, 71-85.2006

BARTH, O.M.; LUZ, C. F. P. Palynological analysis of Brazilian red propolis samples. **Journal of Apicultural Research and Bee World**, 48, 3, 181-188. 2009.

BARROS, M. H. M. R.; LUZ, C. F. P., ALBUQUERQUE, P. M. C. Pollen analysis of geopropolis of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (Meliponini, Apidae, Hymenoptera) in areas of Restinga, Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. **Grana**, 52, 22, 81-92. 2013.

BASTOS, E. Origem botânica e indicadores de qualidade da “própolis verde” produzida no Estado de Minas Gerais, Brasil. 2001 (Doctoral dissertation, Tese (Doutorado)–Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto). 2001.

BELITZ, H.D. & GROSCH, W. **Enzymes**. In: Food Chemistry (HadZiev, D., Translator), pp. 73-127. Springer Verlag, Berlin. 1987.

BEZERRA, J. M. D. Meliponicultura: uma atividade essencial para economia familiar do trópico úmido. In: MOURA, E. G. (Coord.). **Agroambientes de transição: entre o trópico úmido e o semi-árido maranhense**. São Luís: Universidade Estadual do Maranhão, UEMA, 144-203. 2004.

BIESMEIJER, J. C., SLAA, E. J., CASTRO, M. S. DE., VIANA, B. F., KLEINERT, A., FONSECA, V.L. I. Connectance of Brazilian social bee - food plant networks is influenced by habitat, but not by latitude, altitude or network size. *Biota Neotropica*, Campinas, 5, 1-9. 2005.

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.

CABRAL, I. S. R., OLDONI, T. L. C., PRADO, A., BEZERRA, R. M. N., ALENCAR, S. M. D., IKEGAKI, M., & ROSALEN, P. L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**. 2009.

CAMARGO, J.M.F.; POSEY, D.A. O conhecimento dos Kayapó sobre as abelhas sociais sem ferrão (Meliponidae, Apidae, Hymenoptera): notas adicionais. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi** (Série Zoologia), 6, 17-42. 1990.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier. In: MOURE, J. S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. (Org.). **Catalogue of bees (Hymenoptera, Apoidea) in the neotropical region**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Entomologia. p. 272-578.1836. 2008.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. Accessed Jun/24/2013.2013>. Acesso em 15 de Julho de 2015. 2013.

CARVALHO-ZILSE, G. A.; SILVA, C. G. N. DA; ZILSE, N.; VILAS-BOAS, H. C.; SILVA, A. C. DA; LARAY, J. P.; FREIRE, D. DA C. B.; KERR, W. E. **Criação de abelhas sem ferrão**. IBAMA/PRÓVARZEA, Manaus, Amazonas, Brasil. 27pp. 2005.

CARVALHO, C.A.L.; MARCHINI, L.C. Tipos polínicos coletados *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Scientia Agrícola**, 56, 1-8. 1999.

CARVALHO-ZILSE, G.A. & NUNES-SILVA, C.G. Threats to the Stingless Bees in the Brazilian Amazon: How to Deal with Scarce Biological Data and an Increasing Rate of Destruction. In: Florio, RM (Ed), Bees: Biology, Threats and Colonies. **Nova Science Publishers**, 4: 47-168. 2012.

CASTALDO, S., & CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, 73, S1-S6. 2002.

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.

CONTRERA, F. A. L.; MENEZES C.; VENTURIERI, G. C. New horizons on stingless beekeeping (Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40, 48-51. 2011.

COOPER-DRIVER, G. A. Biological roles for phenolic compounds in the evolution of early land plants. **Plants invade the land: evolutionary and environmental perspectives**, 159-172. 2001.

CORTOPASSI-LAURINO, M. A abelha jataí: uma espécie bandeira? (*Tetragonisca angustula* Latreille 1811). **Revista Mensagem Doce**, 80. 2005.

CORTOPASSI-LAURINO, M., IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., ROUBIK, D. W., DOLLIN, A., HEARD, T., AGUILAR, I.; NOGUEIRA-NETO, P. Global meliponiculture: challenges and opportunities. **Apidologie**, 37, 2, 275-292. 2006.

CUESTA-RUBIO, O., PICCINELLI, A. L., FERNANDEZ, M. C., HERNANDEZ, I. M., ROSADO, A., & RASTRELLI, L. Chemical characterization of Cuban propolis by HPLC–PDA, HPLC–MS, and NMR: The brown, red, and yellow Cuban varieties of propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 7502–7509. 2007.

CRUZ, D.O., FREITAS, B.M., SILVA, L.A., SILVA, E.V.S.; BOMFIM, I.G.A. Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Sci. Anim. Sci.**, 26: 293-298. 2004.

CUSHNIE, T. T., & LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International journal of antimicrobial agents**, 26(5), 343-356. 2005.

- DA SILVA, J. F. M., DE SOUZA, M. C., MATTA, S. R., DE ANDRADE, M. R., & VIDAL, F. V. N. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. **Food Chemistry**, 99(3), 431-435.2006.
- DAI, J., MUMPER, R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313-7352, 2010.
- DE CASTRO, S.L. Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. **Ann Rev Biomed Sci** 3: 49–83.2001.
- DE FREITAS, G. S., DE ASSIS, A. F., DE SOUZA, C. C. M., DE SOUSA, J., & SOARES, A. E. E. O doce lar das abelhas indígenas sem ferrão. **Mensagem Doce**, 100, 15-20. 2009.
- DUALIBE, S. A. C. **Efeito do extrato de própolis na contagem de *Streptococcus mutans* da cavidade oral**. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, 73p. 2004.
- DUCKE, A. Contribution a la connaissance de la faune hyménoptérologique du Nord-Est de Brésil. **Rev. D'Entomol**, 28, 78-122. 1910.
- 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, 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 fanhens and antioxidante activity of geopropolis from the Stingle bee *Melipona fasciculata* Smith. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62, 2549-2557. 2014.
- ENGELS, W. Staden's first report in 1557 on the collection of stingless bee honey by Indians in Brazil. In: P. Vit; S.R.M. Pedro & D.W. Roubik (Eds.), **Pot- Honey: A legacy of stingless bees** (pp. 241-246). New York: Springer. 2013.
- FABRIS, S., BERTELLE, M., ASTAFYEVA, O., GREGORIS, E., ZANGRANDO, R., GAMBARO, A., & STEVANATO, R. Antioxidant properties and chemical composition relationship of Europeans and Brazilians propolis. 2013.
- FERRAZ, R.E., LIMA, P.M., PEREIRA, D.S., FREITAS, C.C.O. & FEIJÓ, F.M.C. Microbiota fúngica de *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae). **Neotrop. Entomol**, 37, 345-6. 2008.
- FREITAS, M. O., PONTE, F. A., LIMA, M. A. S., & SILVEIRA, E. R. Flavonoids and triterpenes from the nest of the stingless bee *Trigona spinipes*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 19, 3, 532-535.2008.
- FREITAS, A.S, BARTH, O.M, LUZ, C.F P. Própolis marrom da vertente atlântica do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação palinológica. **Revista Brasileira de Botânica**, 33, 2, 341-352.2010.

FREITAS A.S, BARTH O.M, SALES E.O, MATSUDA A.H, MURADIAN L. B. A. A palynological analysis of Brazilian propolis samples. **J Api Product Api Medical**, 3, 67-74. 2011.

FREITAS A.S, VIT, P, BARTH O. M. Pollen profile of geopropolis samples collected by native bees (Meliponini) in South American countries. **Sociobiology**, 59, 1-16. 2012.

FREITAS, A.S.; VIT, P.; BARTH, O.M. Pollen analysis of geopropolis and propolis from stingless bees. pp. 1-7. In Vit P & Roubik DW, eds. **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes; Mérida, Venezuela. Disponível em <<http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/35292>>. Acesso em 17 de maio de 2015.2013

GHASEMZADEH, A.; GHASEMZADEH, N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. **Journal of medicinal plants research**, v. 5, n. 31, p. 6697-6703, 2011.

GHISALBERTI, E.L. Propolis: a review. **Bee World**, 60, 59-84. 1979.

GONDIM, C.J.E. Alguns aspectos da biologia reprodutiva do guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mar.) Ducke - Sapindaceae. **Acta Amazonica**, 14, 1, 2, 9-38. 1984.

GULLAN, P.J.; CRANSTON, P.S. **Os insetos: um resumo de entomologia**. 3.ed. Tradução de Sonia Maria Marques Hoenen. São Paulo: Roca, 440p. 2008.

GUTIÉRREZ, A. A.; HERNÁNDEZ, F. O.; JONES, R. W. Optimum Brood Size for Artificial Propagation of the Stingless Bee, *Scaptotrigona mexicana*. **Journal of Apicultural Research**, 41, 1, 2, 62-63. 2002.

HARBORNE, J. B., & WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, 55(6), 481-504. 2000.

HARBORNE, J. B. Phenolic compounds. In *Phytochemical methods* (pp. 33-88). Springer Netherlands. 1973.

HEARD, T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, 44, 183-206. 1999.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. **Polinizadores no cenário mundial e no brasileiro**. In: Anais da Reunião da SBPC, Fortaleza, in CDROM . 2005.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; CONTRERA, F.A.L.; KLEINERT, A.M.P. **A Iniciativa Brasileira dos Polinizadores e a meliponicultura**. In: Anais do XV Congresso Brasileiro de Apicultura e I Congresso Brasileiro de Meliponicultura. Natal. In CDROM. 2004.

ISHIDA, V. F. D.C.; NEGRI, G.; SALATINO A.; BANDEIRA M.F.C.L. A new type of Brazilian propolis: Prenylated benzophenones in propolis from Amazon and effects against cariogenic bacteria. **Food Chemistry**, 125, 3,966–972. 2011.

JONES, R. Stingless bees: a historical perspective. In P. Vit, S.R.M. Pedro & D.W. Roubik (Eds.), **Pot- Honey: A legacy of stingless bees**. New York: Springer, 219-277. 2013.

KERR, W.E. **Criando as abelhas indígenas**. Chácaras e Quintais, 72, 472-473. 1945.

KERR, W. E. Formação das castas no gênero *Melipona* (Illiger, 1806). **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, 3, 288-312. 1946.

KERR, W.E. Estudos sobre o gênero *Melipona*. Anais da E. S. A. "Luiz de Queiroz", 5: 182-276. 1948.

KERR, W. E. Abelhas, sua biologia e utilidade pp. 1323-1337 in Costa e Silva, LN (ed.) Enciclopédia Universal dos Animais Vol. 5-x. São Paulo: Editôra Myrtis Limitada [1331] (as *Trigona* (*Nannotrigona*) *testaceicornis*, communication, sound). 1967.

KERR, W.E. Sex determination in bees. XXI. Number of XO-heteroalleles in a natural population of *Melipona compressipes fasciculata*. **Insects Sociaux**, 34, 274– 279. 1987.

KERR, W. E., CARVALHO, G. A., COLETTTO-SILVA, A.; ASSIS, M. G. P. Aspectos Pouco Mencionados da Biodiversidade Amazônica. **Revista Parcerias Estratégicas**, Brasília, DF, 12, 20-41. 2001.

LIBÉRIO, 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 Complement Altern Med.**, 11, 108. 2011.

LOPES, R. M., OLIVEIRA, T. D., NAGEM, T. J., & PINTO, A. D. S. Flavonoides. **Biotecnologia ciência & desenvolvimento**, 17, 18-22. 2000.

LUZ, C. F. P, BARTH, O.M, BACHA JUNIOR, G. L. Análise palinológica de própolis vermelha do Brasil: subsídios para a certificação de sua origem botânica e geográfica. **Mensagem Doce**, 102, 10-15. 2009.

MALEŠEV, D., & KUNTIĆ, V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. **Journal of the Serbian chemical society**, 72(10), 921-939. 2007.

MANRIQUE, A.J.; SANTANA, W.C. Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. de Brasil y Venezuela. **Zootecnia Tropical**, 26, 157-166. 2008.

MALKOWSKI, S.R.; FARAJ, B.H. & SCHWARTZ-FILHO, D.L. Eficiência de garrafas-iscas na captura de enxames de *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) (Hymenoptera, Apidae). Anais do 16º. Congresso Brasileiro de Apicultura e 2º. Congresso Brasileiro de Meliponicultura. Aracaju, SE, CD Rom. 2006.

- MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, 19, 529-535.1996.
- MARCUCCI, M. C., WOISKY, R. G., & SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonoides em amostras de própolis. **Mensagem doce**, 46, 3-8. 1998.
- MARCUCCI, M. C., & BANKOVA, V. Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. **Current Topics in Phytochemistry**, 2(2), 115-123. 1999.
- MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; VIGUERA, G.C.; BANKOVA, S.; CASTRO, S.L.; DANTAS, A.P.; VALENTE, P.H.M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**. 74, 105-112. 2001.
- MARQUELE, F. D., DI MAMBRO, V. M., GEORGETTI, S. R., CASAGRANDE, R., VALIM, Y. M., & FONSECA, M. J. V. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 39(3), 455-462. 2005.
- MATOS, V. R., ALENCAR, S. M.; SANTOS, F. A. Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L.(Apidae) in an area of the Semiarid Region of Bahia, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 86, 1, 407-418. 2014.
- MMA, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Bibliografia brasileira de polinização e polinizadores**. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas (Série Biodiversidade 16). 205p. 2006.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 23 jan 2001. Seção 1, p. 18-23. 2001.
- MICHENER, C. D. **The social behavior of the bees**. Harvara University. Press, 404p. 1974.
- MICHENER, C. D. **The bees of the world**. 2ND. ED. JOHNS HOPKINS, BALTIMORE. 2007.
- MOURE, J.S.; KERR, W.E. **Sugestões para a modificação da sistemática do gênero *Melipona* (Hymenoptera-Apoidea)**. Dusenía, 1, 2:105-129. 1950.
- MOURE, J.S. **Notas sobre Meliponinae (Hymenoptera, Apidae)**. Dusenía, Paraná, 2, 1, 25-70. 1951.
- MOURE, J. S. ***Melikerria* e *Eomelipona*, dois subgêneros novos em *Melipona* Illiger, 1806 (Hymenoptera, Apidae)**. Naturalia (UNESP) (no especial em homenagem aos 70 anos do prof. Kerr), 32-38. 1992.

MOURE, J. S.; G. A. R. MELO.; L. R. R. FARIA JR. Tribe Euglossini, p. 214-255. In: Moure, J. S.; D. Urban & G. A. R. Melo (Eds.). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. Curitiba, Sociedade Brasileira de Entomologia, 1058. 2007.

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 de Doutorado, em Zootecnia. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 111. 2001.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Journal of Nutrition**, Boca Raton, v.29, n.4, p.273-300, 1990.

NOGUEIRA NETO, P. The scutellum nest structure of *Trigona* (*Trigona*) *spinipis* (Fabr.1793) (Hymenoptera: Apidae). **Journal of New York Entomological Society**, New York, 70, 239-264. 1962.

NOGUEIRA-NETO, P. **A Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão**. 2ª ed. São Paulo, SP: Chácaras e Quintais, 365 p. 1970.

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

NUNEZ, C. V.; OLIVEIRA, M. L., LIMA, R. D.; DIAZ.; I. E. C.; SARGENTINI, E.JR.; PEREIRA JR, O. L.; ARAÚJ, L. M.. Chemical analyses confirm a rare case of seed dispersal by bees. **Apidologie**, 39, 618–626. 2008.

OCAMPO ROSALES, G.R. Medicinal uses of *Melipona beecheii* honey, by ancient Maya. In P. Vit; S.R.M. Pedro & D. Roubik (Eds.), **Pot- Honey: A legacy of stingless bees**. New York: Springer, 229-240. 2013.

OLDONI, T. L. C., CABRAL, I. S., D'ARCE, M. A. R., ROSALEN, P. L., IKEGAKI, M., NASCIMENTO, A. M., & ALENCAR, S. M. Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. **Separation and purification Technology**, 77(2), 208-213. 2011.

OLIVEIRA, F. **Abelhas visitantes de *Mouriri acutiflora* Naudin (Melastomataceae) utilizam o óleo dos elaióforos como recurso floral**. 65 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 2010.

ORSI, R.O.; FERNANDES JR. A.; BANKOVA, V.; SFORCIN, J.M. Antibacterial effects of Brazilian and Bulgarian propolis and synergistic effects with antibiotics acting on the bacterial DNA and folic acid. **Nat Prod Res**, 26: 344- 349. 2012.

PARK, Y.K.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINE, A.R.P.; AGUIAR, C.L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Cienc Rural**, 2, 997-1003. 2002.

PEREIRA, A. D. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; NETO, F. R. D. A. Propolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, 25, 321-326. 2002.

PEREIRA, G.C.A. **Própolis-Conceitos, Aplicabilidade e efeitos com ênfase na doença periodontal**. Campina Grande (Monografia). 2012.

PETERSON, J., & DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, 18(12), 1995-2018. 1998.

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.

POPOVA, M. P., BANKOVA, V. S., BOGDANOV, S., TSVETKOVA, I., NAYDENSKI, C., MARCAZZAN, G. L., & SABATINI, A. G. Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. **Apidologie**, 38, 3, 306-311. 2007.

QUINTAL, R.B.; ROUBIK, D.W. *Melipona* bees in the scientific world: Western cultural views. In P. Vit, S.R.M. Pedro & D. Roubik (Eds.), **Pot- Honey: A legacy of stingless bees**. New York: Springer, 247-259. 2013.

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

RAFAEL, J.A. Prefacio. In J.A. Rafael (Ed.), **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia** (pp. xiii-xiv). Ribeirão Preto: Holos. 2012.

REBÊLO, J. M. M.; REGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) da região setentrional do Estado do Maranhão, Brasil. In: MELO, G. A. R.; SANTOS, I. A. dos. (Ed.). **Apoidea neotropica: homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure**. Criciúma: UNESC, 65-278. 2003.

RÊGO, M.M.C.; ALBUQUERQUE, P.M.C. Redescoberta de *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) nas Restingas do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Barreirinhas, MA. **Neotrop. Entomol.** 35, 416-417. 2006.

RÊGO, M. C., ALBUQUERQUE, P. M. C., VENTURIERI, G. C. Menos locais para ninhos. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, 42, 50-51. 2008.

RIBEIRO, M. H. M., DE ALBUQUERQUE, P. M. C., DA LUZ, C. F. P. 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*, 1-18.2016.

RICE-EVANS, C. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism, and bioactivity. **Free Radical Biology and Medicine**, 36(7), 827-828. 2004.

ROUBIK, D.W. **Ecology and natural history of tropical bees**. New York, Cambridge Univ. Press, 514p. 1989.

ROUBIK, D. W. Pollination of cultivated plants in the tropics. **Food and Agricultural organization of the United States**, 198 p. 1995.

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

SAKAGAMI, S. F. **Stingless bees**. In: HERMANN, H. R. (ed.). Social insects, v. 3. New York: Academic Press, 361-423. 1982.

SALATINO, A.; TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, 2, 33–38. 2005.

SALATINO, A.; FERNANDES-SILVA, C.C.; RIGHI, A.A.; SALATINO, M.F.L. Propolis research and the chemistry of plant products. **Nat Prod Rep**, 28, 925–936. 2011.

SCHWARZ, H.F. The genus *Melipona*. **Bull Am Mus Nat Hist**, 63, 231-480. 1932.

SLAA E. J.; TACK, A. J. M.; SOMMEIJER, M. J. The effect of intrinsic and extrinsic factors on flower constancy in stingless bees. **Apidologie**, 34, 457-468, 2003.

SARTORI, E., CALISTRI, A., SALATA, C., DEL VECCHIO, C., PALÙ, G., & PAROLIN, C. Herpes simplex virus type 2 infection increases human immunodeficiency virus type 1 entry into human primary macrophages. **Virology journal**, 8(1), 166. 2011.

SFORCIN, J. M., AMARAL, J. T., FERNANDES JR, A., SOUSA, J. P. B., & BASTOS, J. K. Lemongrass effects on IL-1 β and IL-6 production by macrophages. *Natural Product Research*, 23(12), 1151-1159. 2009.

SILVEIRA, F.A., MELO, G.A.R., ALMEIDA, E.A.B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte, Ministério do Meio Ambiente. 2002.

SILVA, E. M. S.; FREITAS, B. M.; SILVA, L. A.; CRUZ, D. O.; BOMFIM, I. G. A. Biologia floral do pimentão (*Capsicum annuum*) e a utilização da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) como polinizador em cultivo protegido. **Revista Ciência Agronômica**, 36, 03, 386-390. 2005.

SILVA, B.B.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A.; IKEGALI, M.; SOUZA, V.C.; ESTEVES, A. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evid Based Complement Alternat Med**, 5,3, 313-6. 2008.

SILVA, E. C. C. D., MUNIZ, M. P., NUNOMURA, R. D. C. S., NUNOMURA, S. M., & ZILSE, G. A. C. Phenolic constituents and antioxidant activity of geopropolis from two species of amazonian stingless bees. **Química Nova**, 36(5), 628-633. 2013.

SILVA, G.R.; SOUZA, B.A.; PEREIRA, F.M.; LOPES, M.T.R.; VALENTE, S.E.S.; DINIZ, F.M. New molecular evidence for fragmentation between two distant populations of the

threatened stingless bee *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Journal Hymenoptera Researcher**, 38, 1-9. 2014.

SILVA, A. G.; PINTO, R. S.; CONTRERA, F. A. L.; ALBUQUERQUE, P. M. C., & RÊGO, M. M. C. Foraging distance of *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, 61(4), 494-501. 2014.

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

SHENG, J., ZHOU, J., WANG, L., XU, J., & HU, Q. Antioxidant activity of ethanol and petroleum ether extracts from Brazilian propolis. **European Food Research and Technology**, 225(2), 249-253. 2007.

TEIXEIRA, E.W, MESSAGE, D, MEIRA, R. M. S A & SALATINO, A. Indicadores da origem botânica da própolis, importância e perspectivas. Revisão bibliográfica. **Boletim da Indústria Animal**, 60, 83-106. 2003.

TEIXEIRA, E.W.; NEGRI, G.; MEIRA, R.M.S.A;MESSAGE, D.;SALATINO, A. Plant origin of green propolis: bee behavior, plant anatomy and chemistry. Complement. **Alternat.Med**, 2, 85–92. 2005.

TRUSHEVA, B.; POPOVA, M.; NAYDENSKI, H.; TSVETKOVA, V.; RODRIGUEZ, J. G.; BANKOVA, V. New polyisoprenylated benzophenones from Venezuelan propolis. **Fitoterapia**, 75, 683–689. 2004.

TOMAS-BARBERAN, F.A.; GARCIA-VIGUERA, C.; VIT-OLIVIER, P.; FERRERES, F.; TOMAS-LORENTE, F. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical from Venezuela. **Phytochemistry**, 34: 191-196. 1993.

VAN BENTHEM, F.D.J.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; VETHIUS, H.H.W. Biology of the stingless bees *Plebeia remota* (Holmberg): observations and evolutionary implications. **Insectes Sociaux**, 42, 71-87. 1995.

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

VIT, P. *Melipona favosa* pot-honey from Venezuela. In P. Vit; S.R.M. Pedro & D.W. Roubik (Eds.), **Pot- Honey: A legacy of stingless bees**. New York, 363-373, Springer. 2013.

VENTURIERI, G. C. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 36p. 2004.

VENTURIERI, G.C. **Criação de abelhas indígenas sem ferrão**. Belém, Embrapa Amazônia Oriental. 2008.

VELTHIUS, H.H.W. **Biologia das abelhas sem ferrão**. 1ª ed,ed,Atnverpia,33p. 1997.

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, 213-236. 2012.

VIDIGAL, M. C. S. **Sistema de polinização e reprodução de duas espécies de Myrtaceae em uma região da baixada maranhense**. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 2010.

ZAMORA, G.; ARIAS, M.L.; AGUILAR, I.; UMAÑA, E. Costa Rican pot-honey: its medicinal use and antibacterial effect. In P. Vit, S.R.M. Pedro & D.W. Roubik (Eds.), **Pot-Honey: A legacy of stingless bees**. New York: Springer, 507-512. 2013.

WARAKOMSKA, Z., MACIEJEWICZ, W. Microscopic analysis of propolis from Polish regions. **Apidologie**, 23, 277-283, 1992.

WILLE, A. Biology of the stingless bees. **Annu. Rev. Entomol**, 28, 41-64. 1983.

Capítulo 1:

Palynology as a tool for distinguishing geopropolis samples from *Melipona* species in the Maranhense Amazon, Brazil.

Monique Hellen Martins Ribeiro , Cynthia Fernandes Pinto da Luz & Patrícia Maia Correia de Albuquerque

Artigo submetido em 11/03/17 à Journal of Apicultural Research (ISSN: 2078-6913).

Laboratório de Estudos sobre Abelhas, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Maranhão, Brasil, ²Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo, Brasil.

Correspondence: Monique Hellen M. Ribeiro, *Laboratório de Estudos sobre Abelhas, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Maranhão, Avenida dos Portugueses, s.n., Campus Universitário do Bacanga, 65085-580 São Luís, MA, Brasil.*

monique.hrbio@gmail.com

Abstract

We analyzed the pollen spectrum from one hundred and thirty geopropolis samples collected by *Melipona subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* and *M. fasciculata*. The samples were collected in the municipality of Santa Luzia do Paruá in the Alto Turi region, part of the Amazon region in the state of Maranhão. The objective was to determine the phytogeographic pollen profile of geopropolis samples from *Melipona* species, and to help characterize the resin supplying vegetation for these bees. Geopropolis samples were collected monthly from December 2013 to December 2014 from nests kept in wooden boxes in a private meliponary. Samples were prepared using standard methodology. A total of 148 pollen types were identified, distributed among 49 plant families and 108 genera. Of these, 16 types were found exclusively in *M. subnitida*, 11 in *M. seminigra*, 9 in *M. flavolineata* and 8 types in *M. fasciculata*. In general the months with the greatest richness of pollen types were December 2013, June 2014, September 2014, October 2014, and December 2014. The botanical family Fabaceae presented the greatest pollen richness (39 types), followed by Rubiaceae (11 types). The most common pollen types in the geopropolis for the four *Melipona* species were: *Attalea speciosa*, *Anacardium*, *Borreria verticillata*, *Baccharis*, *Clusia*, *Chamaecrista*, *Croton*, *Euterpe/Syagrus*, *Eucalyptus*, *Hyptis*, *Mauritia*, *Mimosa pudica*, *M. caesalpinaefolia*, *Mouriri*, *Myrcia/Psidium*, *Protium*, and *Symphonia globulifera*, characteristic of the phytogeographic pollen profile of the product in the study region.

Key words: Pollen analysis, Botanical diversity, *Melipona*, Resins, Amazonian domain.

Introduction

Stingless bees are generalists, collecting nectar and pollen from a wide variety of plants (Biesmeijer et al., 2005; Nogueira-Neto, 1997; Ramalho, Kleinert-Giovannini & Imperatriz-Fonseca, 1990; Rêgo, Albuquerque & Venturieri, 2008; Silveira, Melo & Almeida, 2002), and are considered important pollinators of native tropical and subtropical plants (Heard, 1999). The Amazon region is home to a wide variety of ecosystems which provide diverse niches for these bees, where both native and introduced plants offer resources such as pollen and nectar, as well as resins and fibers used for nesting substrate or colony construction (Venturieri et al., 2012). The Amazon region contains the greatest diversity of stingless bees in Brazil, especially those of the genus *Melipona* (Silveira et al., 2002). Species in this genus are generally larger in size, and are extensively managed.

Stingless bees can produce propolis or geopropolis from plant resins, which they collect from stalks or branches of damaged trees; the quantity of products used varies by bee species (Kerr, 1987; Nogueira-Neto, 1997; Salatino, Teixeira & Neves, 2005; Sawaya et al., 2007; Teixeira, 2003). Unlike propolis, to elaborate geopropolis bees use plant material, gland secretions, wax, and pollen. Some indigenous bee species also add soil, clay, mud, or sand, and in some cases the product does not contain plant tissue or trichomes (Kerr, 1987; Freitas et al., 2008; Nogueira-Neto, 1997). Geopropolis is widely used among stingless bees for construction of nest components, both external (e.g., entrance tubes) and internal (e.g., honeycomb, enclosure lamellae and food pots) (Michener, 1974; Michener 2000; Nogueira-Neto, 1997; Santos et al., 2009; Venturieri et al., 2003).

Brazilian propolis varies in chemical composition according to the plant species it is derived from, and high botanical diversity in Brazil yield propolis with distinct biological properties and significant variation in antioxidant capacity. The phenolic acid Artepillin-C has been identified as one of the most important ingredients in Brazilian propolis, and the high concentration in propolis brings strong commercial value to the product. Pollen analysis indicates that *Baccharis* and other Asteraceae are sources of Artepillin-C, which validates palynological methods as complementary to physiochemical analysis for product certification (Barth et al., 2013). Physiochemical analyses of geopropolis produced in two different sites in Maranhão differed in phenolic acid concentration depending on the origin of the plant resins (Batista et al., 2016).

Analyses of pollen grains and other constituents of propolis and geopropolis are useful for both commercial and academic interests, as it is possible to identify the phytogeographic region where the products were made (Freitas et al., 2011; Freitas et al. 2012; Luz, Barth & Bacha Junior, 2009). About 5% of the weight of geopropolis is formed by pollen grains, which are considered contaminants in the product. Pollen grains adhere to resins when carried by wind, and are also derived from food stocks inside of colonies. The pollen spectrum of the geopropolis is an excellent phytogeographic indicator, as it provides a snapshot of the anemophilic, entomophilic, nectariferous, and resin-producing vegetation in the production area (Barth, Dutra & Justo, 1999; Barth & Luz, 2003).

Studies involving palynological analysis of geopropolis are scarce, although we highlight work by Barth & Luz (2003), Barth (2006), Barth et al (2008) for geopropolis of several bee species in southeastern Brazil (Espírito Santo, Minas Gerais, and São Paulo). The results from these studies indicate high pollen diversity even in samples produced in the same area, which varies according to the food preferences of *Lestrimellita cf. limao*, *Melipona quadrifasciata*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* and *Trigona recurs*; however these studies also highlight the prevalence of pollen from several species of Anacardiaceae, Arecaceae, *Cecropia*, *Eucalyptus*, Melastomataceae, *Mimosa scabrella*, *Myrcia* and *Piper*. Freitas et al. (2012) studied sixteen geopropolis samples from ten bee species in southern Brazil (Paraná), Bolivia, and Venezuela. As expected due to the diversity of vegetation types in these areas, pollen analysis demonstrated high diversity and rare overlap of taxa, even among samples from the same bee species. Melastomataceae was the dominant family in samples from *Melipona quadrifasciata* and *M. mondury*. There was no predominance of pollen species in samples collected from two *Tetragonisca angustula* colonies located in different municipalities of Paraná, however Arecaceae and *Cecropia* pollen had high frequency of occurrence. Freitas, Vit & Barth (2013) reviewed the results of pollen, fungi, plant tissues, and mineral content, among other compounds, in previous studies by Barth & Luz (2003), Barth (2006) and Freitas et al. (2012). This review demonstrated that hyphae, fungal spores, and amorphous organic matter are present in geopropolis in all studies carried out in Brazil. Sandy and mineral clay residues are commonly present in samples, and were only absent in the propolis of *Nannotrigona testaceicornis* and *Frieseomelita varia* (Lepeletier 1836) from Ribeirão Preto in São Paulo; fragments of plant tissues are also commonly present

in geopropolis samples. Barth & Freitas (2015) also associated the results obtained for the four Brazilian samples of Paraná geopropolis in Freitas et al. (2012) with the samples of *Apis mellifera* propolis for comparison of the constituents. They concluded that pollen content is not an ideal metric for differentiation between propolis and geopropolis, and suggest instead using the presence of trichomes (in *A. mellifera* propolis) and mineral content (in geopropolis). A few studies have been carried out in northeastern Brazil, including Barros, Luz & Albuquerque (2013) who studied sixteen samples of *Melipona fasciculata* geopropolis in Maranhão produced in August 2011 in regions of Restinga, Cerrado, and periodically flooded fields. *Mimosa pudica* and *M. caesalpiniiifolia* pollen were dominant in several samples. In rural areas, common taxa included *Mimosa pudica*, *M. caesalpiniiifolia*, *Eucalyptus* and Euphorbiaceae, in order of importance. In the Cerrado, *M. pudica*, *M. caesalpiniiifolia*, *Chamaecrista*, *Bauhinia*, *Erechtites*, *Eucalyptus* and Euphorbiaceae were commonly identified. In Restinga, pollen from *Solanum*, *Chamaecrista*, *Protium*, *Psidium*, Arecaceae, *Desmodium*, *Mauritia* and Meliaceae (Preazinho Village) was found in samples, while *Combretum*/Melastomataceae, *Chamaecrista*, *Protium*, *Ardisia*, *Solanum* and *Psidium* were the most frequent pollen types in samples from Cerrado in the city of Boa Vista. Despite the samples having been collected in a single month, they nonetheless showed dissimilarity in pollen types. This demonstrates the utility of pollen analysis to characterize different environments and possibly, the dietary habits of associated bees. Souza et al. (2015) analyzed geopropolis samples from four *Scaptotrigona* aff. *postica* colonies collected over the course of a year in Barra do Corda in the central region of Maranhão. The area contains secondary forest vegetation, riparian forest, and pastures, as well as ornamental and medicinal plants in backyards of residences. The authors reported that *Borreria verticillata* was the most frequent pollen type found in samples, followed by *Anadenanthera* and *Mimosa caesalpiniiifolia*. Ribeiro et al. (2016) analyzed 120 samples of *Melipona fasciculata* geopropolis collected during a year in Palmeirândia (periodically flooded field vegetation) and Barreirinhas (Cerrado) in Maranhão. A total of 121 pollen types were identified, belonging to 52 families and 84 genera. The predominant types (> 45%) were *Adenocalymma inundatum* (Bignoniaceae), *Bauhinia reflexa* (Caesalpinaceae), *Caryocar* (Caryocaraceae), *Chamaecrista* (Fabaceae), *Lafoensia* (Lythraceae), *Mauritia* (Arecaceae), *Machaerium* (Fabaceae), *Mimosa pudica* (Mimosaceae), and *Ouratea* (Ochnaceae). Several pollen types were unique to a single environment, and as such were able to phytogeographically characterize seasonal flowering as well as identify plant species present in the study area.

Considering the scarcity of research on Brazilian geopropolis, the present study aimed to determine the palynological spectra of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854, *Melipona (Michmelia) seminigra* Friese 1903, *Melipona flavolineata* Friese 1900, and *Melipona subnitida* Ducke 1910. We also characterize the relationships between these stingless bee species and regional vegetation in the Maranhense Amazon.

Materials and Methods

Study area and sample collection

Maranhão State has an area of 328.63 km², representing 3.86% of the Brazilian national territory. It is located in northeastern Brazil between 01°01' and 10°21'07" S, and 41°48'30" and 48°50'51" W. The vegetation differs from that of other states, and includes the transition region between the Amazonian forest, the Cerrado do Planalto Central, and the Northeastern Caatingas. This unique position gives Maranhão state great ecological importance, as it is composed of a phytogeographic mosaic with high probability of overlap and interactions between fauna from the three macroregions.

Geopropolis samples were collected monthly from December 2013 to December 2014 in a meliponary located in the municipality of Santa Luzia do Paruá (02°32'36,2" S; 45°46'26,9" W), which is located in the western portion of Maranhão in the microregion of Pindaré (Figure 1). We used a chisel to scrape geopropolis samples from 10 stingless bee colonies: three *Melipona fasciculata* colonies, three *M. flavolineata* colonies, two *M. subnitida* colonies, and two *M. seminigra* colonies. The populations presented good sanitary conditions and sufficient numbers of bee workers for sampling. The Alto Turi region of Maranhão lies predominantly in a forest ecosystem, with some Cerrado. Its entire perimeter is in the Maranhense Amazon, a region of forest influenced by the Turiaçu river, which is born in the same region in the Serra da Desordem (MTE, 2012). The entire northwestern region of Maranhão is covered by forest corresponding to the Tocantins and Gurupi regions as described by Hueck (1972), which extend from the Gurupi river to the Mearim, passing through Pindaré.

Throughout the landscape large plant species are prominent, including *Piranhea trifoliata* Baill. (piranheira), *Cenostigma tocanthum* Ducke (caneleiro), *Hymenaea courbaril* L. (jatobá), *Spondias lutea* L. (cajazinho), *Copaifera reticulata* Ducke (copaíba), *Hymenaea parvifolia* Huber (jatobá-curuba), as well as highly dense species like *Protium tenuifolium* Engl. (amesclão). There are also rare species in the area, including

Tabebuia impetiginosa Mart. ex DC. Standl. (ipê-roxo), *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichols (ipê-amarelo), *Parkia* sp. (faveira), *Astronium gracile* Engl. (muiracatiara), *Eschweilera amazonica* R. Knuth (juruparana), *Apuleia leiocarpa* (Vog.) Macbr (amarelão), *Lecythis usitata* R. Knuth (jarana), and *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Decne & Planch (morototó), among others that account for the high botanical diversity in this area (Muniz, 2011).

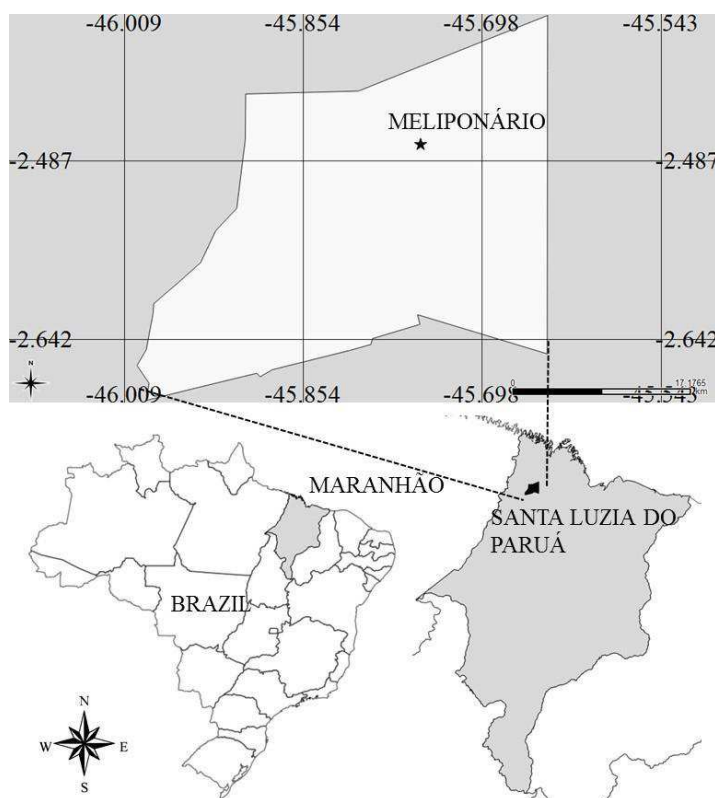


Figure 1: Map showing the location of the meliponary where stingless bee geopropolis samples were collected in the municipality of Santa Luzia do Paruá, Maranhão, Brazil.

Laboratory preparation of geopropolis samples and palynological analysis

We prepared and analyzed samples following Barth (1998). We first extracted 0.5 grams of each sample of geopropolis using 15 ml ethanol, incubated overnight or for several days. Samples were washed in distilled water and filtered through a 0.3 mm mesh sieve to eliminate larger organic particles. The filtrate was then placed on an ultrasonic agitator for 3 minutes, using special plastic tubes with sealing rings and 5 µm nylon mesh to eliminate other fragments. Prior to the application of the Erdtman (1960) acetolysis

mixture, we prepared microscope slides from the sediment retained on the mesh sieve for future analysis of the figurative elements and inorganic material, to aid in sample characterization (Barth & Luz, 2003; Barth & Freitas, 2015). At the end of the preparation, permanent slides were prepared in triplicate, made with glycerine-jelly and paraffin-sealed (Kisser, 1935; Muller, 1947).

The palynological evaluation was based on counts of at least 300 pollen grains per sample, observed under a light microscope at resolutions ranging from 400X to 1000X. Identification of the pollen types was by comparison with the area reference library following Santos (2011), whose slides are available in the Laboratory of Bee Studies (LEA) at Federal University of Maranhão. The pollen catalogs used for identification were Carreira (1976), Melhem & Abreu (1981), Palacios, Ludlw & Villanueva (1991), Roubik & Moreno (1991), Carreira (1996), Velásquez & César (1999), Carreira & Barth (2003), Moura et al. (2004), Leal et al. (2011), among others. Pollen was identified to genus whenever possible, and the denomination "type" was used (Barth, 1989).

To characterize the phytogeographic origin of the samples, the pollen grain count from nectariferous, anemophilous, and polliniferous species (Barth, 1998) were included in the pollen sum (i.e., the pollen types included in the calculations). The percentage of pollen grains in each sample was based on their frequency classes, such as “Predominant Pollen” (45% of the total pollen grains counted), “Secondary Pollen” (15–45%), “Important Minor Pollen” (3–15%) and “Minor Pollen” (3%) following Zander (Louveaux et al. 1978). The frequency of occurrence of pollen types in the sample set was characterized according to Jones & Bryant (1996), who considered the presence or absence of a particular pollen type per sample, classifying them as very frequent (> 50%), frequent (21-50%), infrequent (10-20%), or rare (<10%).

Statistical analysis of the palynological data

We used principal component analysis (PCA) to examine the influence of quantitative and qualitative data on the ordination of pollen types in geopropolis samples for each bee species individually, and then among the four bee species. For data interpretation, geopropolis from colonies of each bee species were integrated into a monthly sample. At the end, we obtained 130 geopropolis samples. We used the FITOPAC program (Shepherd, 1996) for transformation of absolute counts to natural log [$\log(x + 1)$], and then a covariance matrix was constructed using PC-ORD 4.0 (McCune & Mefford, 1999). Variability between the samples was expressed using the first two axes

from the PCA. MINITAB 15 (Minitab, 2008) was used to analyze percent similarity between samples for each bee species individually and among the four bee species.

Results

The samples showed coloration ranging from black to brown. Geopropolis from *M. subnitida* and *M. seminigra* colonies was pliable and malleable, whereas samples from *M. flavolineata* and *M. fasciculata* colonies were rigid and contained large amounts of sand and clay. No trichomes were observed in geopropolis samples in this study. Fragments of soot and organic material were common, as well as sand grains of various sizes and small soil particles; this agrees with the literature describing materials used by Meliponinae for preparation of geopropolis. Fungal spore hyphae and macroscopic fragments of plant tissue were also common in the samples.

Pollen spectrum of geopropolis samples

We obtained a total of 130 geopropolis samples from *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra*, and *M. subnitida*. We found a total of 148 pollen types distributed among 49 families and 108 genera, as well as two unidentified types (Table 1). *M. fasciculata* geopropolis contained 64 pollen types from 28 families and 53 genera; in *M. flavolineata* 98 pollen types were identified from 33 families and 72 genera. *M. seminigra* geopropolis contained 93 pollen types from 37 families and 70 genera, while *M. subnitida* had 107 pollen types from 40 families and 72 genera. The months with the highest number of pollen types (richness) were December 2013, June 2014, September 2014, October 2014 and December 2014 (Figure 2). When geopropolis from *M. subnitida* colonies were analyzed separately, we found a peak in richness in December 2013, February 2014 and November 2014; for *M. seminigra* richness was highest in December 2013, and September and October 2014; for *M. flavolineata* richness was highest in June and October 2014; and for *M. fasciculata* it was highest in December 2013, and February and October 2014 (Figure 2). Geopropolis from *Melipona subnitida* had the highest number of pollen types in six of the study months (December 2013 and February, May, June, September, and November 2014) followed by *M. flavolineata* in January, June and October 2014, and finally *M. seminigra* in April. *M. subnitida* and *M. flavolineata* had the same number of pollen types in July and December 2014, as did *M. seminigra* in September 2014 (Figure 2).

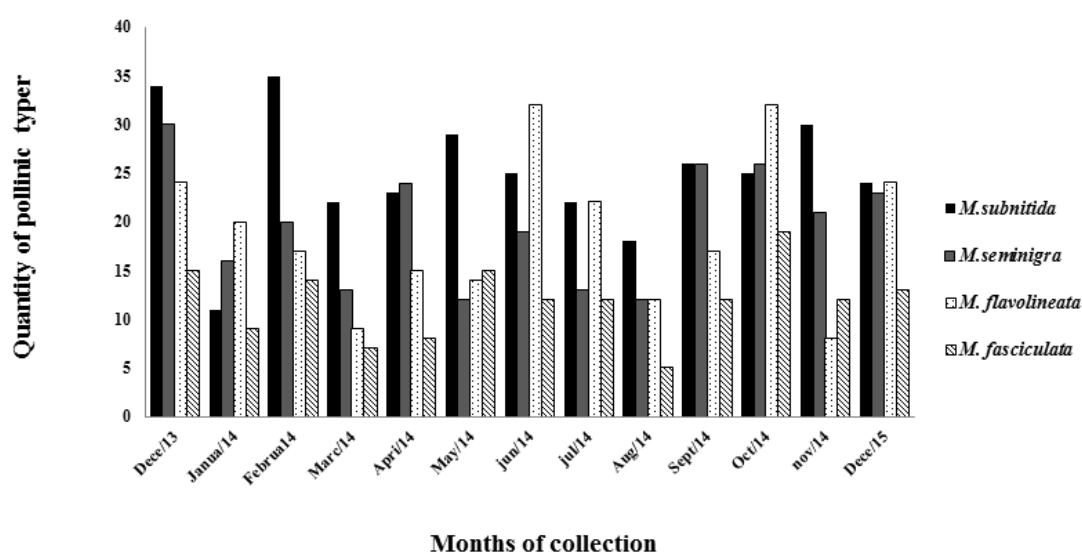


Figure 2: Distribution of the pollen types in samples stingless bee geopropolis by month of collection (December 2013 to December 2014) in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA, Brazil.

The most common pollen types in our four *Melipona* species were: *Anacardium* (Anacardiaceae) (Fig. 3-a), *Attalea speciosa* Mart. (Arecaceae) (Fig. 3-b), *Anadenanthera* (Mimosaceae), *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. (Rubiaceae) (Fig. 3-o), *Byrsonima* (Malphigiaceae), *Baccharis* (Asteraceae) (Fig. 3-c), *Clusia* (Clusiaceae) (Fig. 3-f), *Combretum*/Melastomataceae, *Chamaesyce* Type I (Euphorbiaceae), *Chamaecrista* (Fabaceae) (Fig. 3-j), *Croton* (Euphorbiaceae), *Euterpe/Syagrus* (Arecaceae), *Eucalyptus* (Myrtaceae), *Hyptis* (Lamiaceae) (Fig. 3-l), *Lacistema* (Lacistemaceae) (Fig. 3-k), *Machaerium* (Fabaceae), *Mauritia* (Arecaceae), *Mimosa pudica* L. (Mimosaceae), *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (Mimosaceae), *Mouriri* (Melastomataceae) (Fig. 3-m), *Myrcia/Psidium* (Myrtaceae) (Fig. 3-n), *Omphalea* (Euphorbiaceae) (Fig. 3-i), *Posoqueria* (Bignoniaceae), *Protium leptostachyum* Cuatrec. (Burseraceae) (Fig. 3-e), *Senna* Type I (Fabaceae), *Schrankia* Type I (Mimosaceae), *Solanum* (Solanaceae), *Symphonia globulifera* L. f. (Clusiaceae) (Fig. 3-g) e *Vernonia* Type I (Asteraceae) (Fig. 3-d) (Table 1). Some pollen types were restricted to one bee species throughout the year (Table 2).

In *M. fasciculata*, there were six pollen types characterized as “very frequent”: *Attalea speciosa*, *Borreria verticillata*, *Hyptis*, *Vernonia* type I, *Machaerium* and *Protium*.

In *M. flavolineata* there were ten: *Atalea speciosa*, *Anacardium*, *Borreria verticillata*, *Eucalyptus*, *Hyptis*, *Machaerium*, *Myrcia/Psidium*, *Protium*, *Senna* type I and *Symphonia globulifera*. *M. seminigra* had 11 “very frequent” pollen types: *Anacardium*, *Atalea speciosa*, *Borreria verticillata*, *Euterpe/Syagrus*, *Hyptis*, *Machaerium*, *Mimosa caesalpinifolia*, *Mouriri*, *Myrcia/Psidium*, *Protium* and *Senna* type I. *M. subnitida* had 17: *Anacardium*, *Atalea speciosa*, *Borreria verticillata*, *Chamaecrista*, *Chamaesyce*, *Desmodium* type I, *Eucalyptus*, *Machaerium*, *Mimosa caesalpinifolia*, *Mouriri*, *Myrcia/Psidium*, *Omphalea*, *Poaceae*, *Protium*, *Schrankia* type I, *Senna* type I and *Symphonia globulifera*.

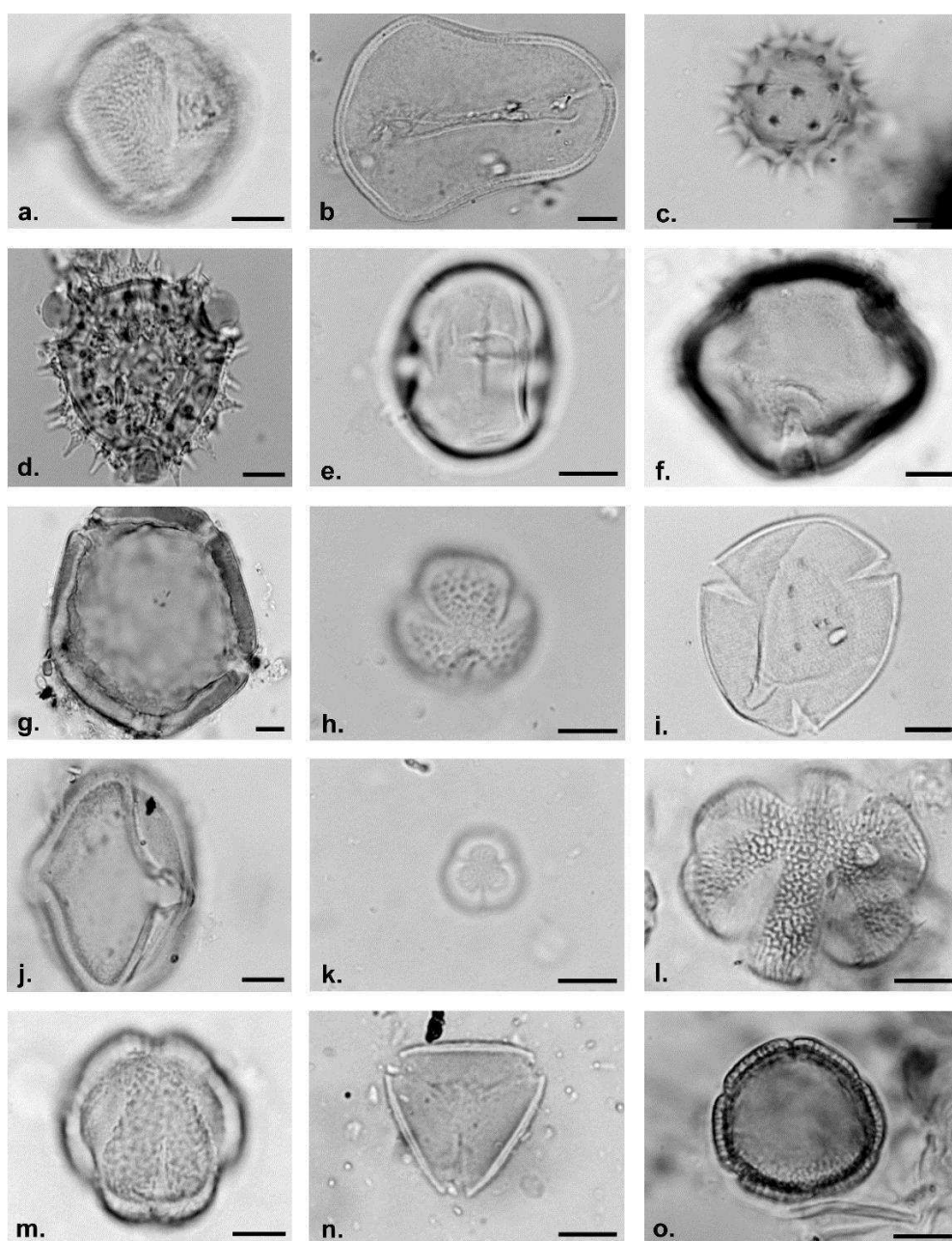


Figure 3: Common pollen types observed in geopropolis samples from *Melipona subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* and *M. fasciculata* colonies in the Amazonian areas of Maranhão state, Brazil: **a.** *Anacardium* (Anacardiaceae); **b.** *Attalea speciosa* (Arecaceae); **c.** *Baccharis* (Asteraceae); **d.** *Vernonia* Tipo I (Asteraceae); **e.** *Protium leptostachyum* (Burseraceae); **f.** *Clusia* (Clusiaceae); **g.** *Symphonia globulifera* (Clusiaceae); **h.** *Chamaesyce* Tipo I (Euphorbiaceae); **i.** *Omphalea* (Euphorbiaceae); **j.** *Chamaecrista* (Fabaceae); **k.** *Lacistema* (Lacistemaceae); **l.** *Hyptis* (Lamiaceae); **m.** *Mouriri* (Melastomataceae); **n.** *Myrcia/Psidium* (Myrtaceae); **o.** *Borreria verticillata* (Rubiaceae). Scale bars = 10µm.

Pollen variability among geopropolis samples from all four bee species summarized 47.83% in the first two PC axes (Figure 4). The first axis accounted for 40.69% of the total variance, with values strongly associated with the constant presence among samples and months, as well as high counts of *Anacardium* (Anacardiaceae), *Attalea speciosa* (Arecaceae), *Borreria verticillata* (Rubiaceae), *Hyptis* (Lamiaceae), *Machaerium* (Fabaceae), *Mouriri* (Melastomataceae), *Myrcia/Psidium* (Myrtaceae), *Omphalea* (Euphorbiaceae), *Protium leptostachyum* (Burseraceae), *Senna* Type I (Fabaceae) and *Symphonia globulifera* (Clusiaceae). Some pollen types were unique to each bee species by month, including *Anadenanthera* (Mimosaceae), *Byrsonima* (Malphigiaceae), *Chamaecrista* (Fabaceae), *Chamaesyce* Type I (Euphorbiaceae), *Clusia grandiflora* Splitg. (Clusiaceae), *Cleobulia* (Fabaceae), *Croton* (Euphorbiaceae), *Eucalyptus* (Myrtaceae), *Eugenia* (Myrtaceae), *Euterpe/Syagrus* (Arecaceae), *Lacistema* (Lacistemaceae), *Mauritia* (Arecaceae), Melastomataceae Type, *Merremia* (Convolvulaceae), *M. caesalpinifolia* (Mimosaceae), *M. pudica* (Mimosaceae), Poaceae Type, *Posoqueria* (Rubiaceae), *Pterocarpus* (Fabaceae), *Schrankia* Type I (Mimosaceae), *Solanum* (Solanaceae), *Vernonia* Type I (Asteraceae) and *Vismia* (Hypericaceae). The pollen types ordinated on the right side of the graphic presented the lowest count values or were not present in all of the samples, so they did not have strong influence on sample ordination.

The similarity dendrogram for monthly geopropolis samples from each bee species formed six main groups, with three isolated samples (Figure 5). The block (a) in the center was composed of 17 very similar samples (97.78%) from *M. flavolineata* colonies (uruçu-amarela, A), *M. seminigra* (uruçu boca de renda, B) and *M. fasciculata* (tiúba, T), as follows: eight samples from the beginning and end of the year for *M.*

flavolineata [GP7A (01/14), GP11A (02/14), GP15A (03/14), GP19A (04/14), GP23A (05/14), GP43A (10/14), GP47A (11/14), GP51A (12/14)]; five samples throughout the year for *M. seminigra* [GP14B (03/14), GP18B (04/14), GP22B (05/14), GP34B (08/14), GP50B (12/14)]; and four samples throughout the year for *M. fasciculata* [GP16T (03/14), GP28T (06/14), GP44T (10/14), GP52T (12/14)]. To this group we added another 13 samples from the same bee species, forming group (b) with 85.97% similarity (three samples in the middle of the year from *M. flavolineata* [GP27A (06/14), GP31A (07/14), GP35A (08/14)]; seven samples throughout the year from *M. seminigra* [GP2B (12/13), GP6B (01/14), GP26B (06/14), GP30B (07/14), GP38B (09/14), GP42B (10/14), GP46B (11/14)]; and three samples from *M. fasciculata* [GP20T (04/14), GP32T (07/14), GP48T (11/14)].

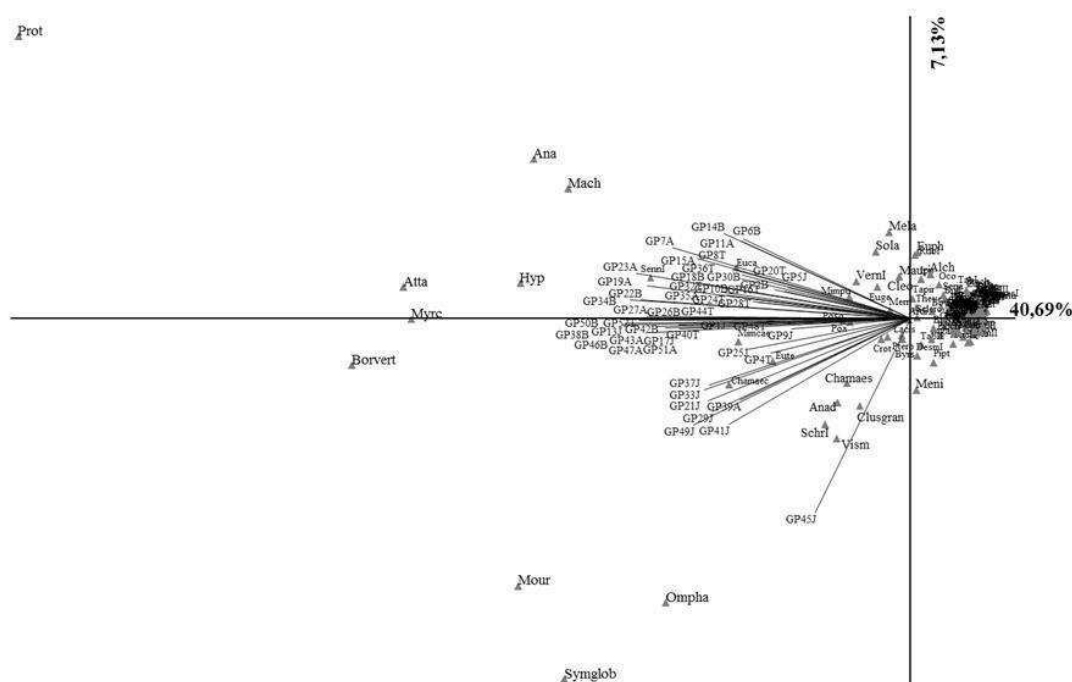


Figure 4: Ordination of the principal component analysis (PCA) for monthly geopropolis samples from stingless bee species (*M. subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* and *M. fasciculata*) in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA, (= Codes for pollen types identified).

Group (d) had 85.40% similarity with the previously formed group (b), then group (c) was formed with nine samples from *Melipona subnitida* (jandaíra, J) [GP13J (03/14), GP29J (07/14), GP33J (08/14), GP37J (09/14), GP41J (10/14), GP45J (11/14), GP49J (12/14)], one from *M. fasciculata* [GP40T (09/14)]; and one from *M. flavolineata* [GP39A (09/14)], along with two additional samples from *M. fasciculata* [GP4T (12/13), GP24T (05/14)]. Group (f) included the previously formed group (d) with group (e), plus one sample from *M. flavolineata* [GP3A (12/13)], one from *M. subnitida* [GP17J (04/14)], and one from *M. fasciculata* [GP36T (08/14)]. Group (e) presented 79.96% similarity in pollen types and included five samples, one from *M. seminigra* [GP10B (02/14)], two from *M. subnitida* [GP1J (12/13), GP5J (01/14)], and two from *M. fasciculata* [GP8T (01/14), GP12T (02/14)]. Finally, to the right of the graphic, *Melipona subnitida* [GP9J (02/14), GP21J (05/14), GP25J (06/14)] were the most distinct, with only 71.87% similarity.

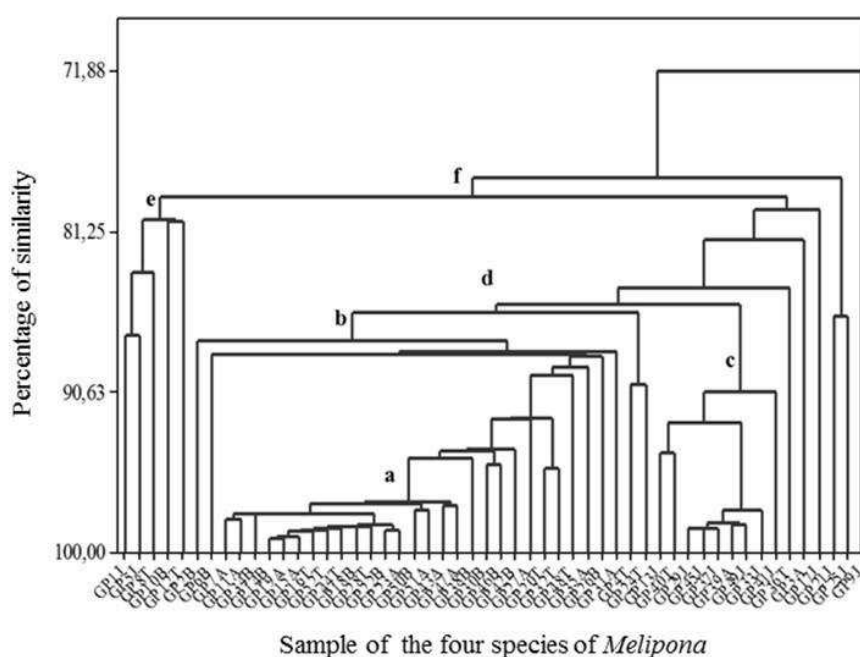


Figure 5: Dendrogram showing similarity among monthly samples of the geopropolis from four stingless bee species (*M. subnitida*, *M. seminigra*, *M. flavolineata* and *M. fasciculata*) from December 2013 to December 2014 in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA, Brazil.

Table 1: Pollen types collected by *Melipona fasciculata* (Mfa), *Melipona flavolineata* (Mfl), *Melipona seminigra* (Msem) and *Melipona subnitida* (Msub) from December / 2013 to December / 2014, in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA , Brazil (Pollen frequency per month (> 45% (P), 15 to 45% (S), 3 to 15% (I) and <3% (M)) ** Pollen types restricted to samples of a species of Bee. * = Presence in the sample.

	Months													Bee species			
Families/pollen types	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Mfa	Mfl	Msem	Msub
<u>MONOCOTILEDÓNEAS</u>																	
ARECACEAE																	
<i>Atalea speciosa</i>	M	I	I	M	M	M	I	I	M	M	M	M	M	*	*	*	*
<i>Euterpe/Syagrus</i>	M	-	I	I	I	I	-	M	M	I	M	I	I	*	*	*	*
<i>Mauritia</i>	-	I	-	I	I	-	-	-	P	-	-	M	M	*	*	*	*
COMMELINACEAE																	
<i>Dichorisandra**</i>	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			*	
CYPERACEAE	-	-	M	-	-	M	M	-	-	-	M	-	-	*	*	*	*
POACEAE	M	-	M	M	M	M	M	M	-	-	M	-	-	*	*	*	*
<i>Zea mays**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	M	*			
PONTEDERIACEAE																	
<i>Eicchornia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	M	-		*	-	*
<i>Pontederia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	M	-		*	*	
<u>EUDICOTILEDÓNEAS</u>																	
ACANTHACEAE**	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-				*
AMARANTHACEAE																	
<i>Althernanthera</i>	-	I	M	M	-	M	-	-	-	M	-	M	-		*		*
<i>Amaranthus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	I	-		*	*	

ANACARDIACEAE																	
<i>Anacardium</i>	I	I	P	I	I	I	I	I	I	M	M	M	M	*	*	*	*
<i>Mangifera</i>	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	I		*	*	
<i>Tapirira</i>	-	M	M	I	-	-	-	-	-	M	-	M	M		*	*	*
<i>Spondias</i>	-	-	-	-	M	-	-	-	M	-	-	-	-		*		*
APOCYNACEAE																	
<i>Lacmellea**</i>	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-			*	
<i>Thevetia</i>	-	-	-	M	I	-	-	-	-	-	-	M	I		*	*	*
ASTERACEAE																	
<i>Baccharis</i>	-	-	-	-	M	-	-	-	M	M	M	M	-	*	*	*	*
<i>Erechtites</i>	-	-	-	-	M	-	-	-	M	-	-	-	-	*		*	
<i>Eupatorium**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-			*	
<i>Vernonia I</i>	-	-	-	P	-	M	-	M	M	M	M	M	-	*	*	*	*
<i>Vernonia II**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	I	*			
BIGNONIACEAE																	
BIGNONIACEAE I	-	-	-	-	M	M	-	M	-	M	-	-	-		*	*	*
BIGNONIACEAE II**													M			*	
BIGNONIACEAE III**	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-		*		
<i>Adenocalymna inundatum</i>	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		*	*	
<i>Adenocalymna sp.**</i>	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-		*		
<i>Tabebuia I</i>	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	M	M	M	*	*		*
<i>Tabebuia II**</i>	M	-	-	M	I	I		M	-	-	M	-	-		*		
BURSERACEAE																	
<i>Protium leptostachyum</i>	P	P	P	P	S	P	P	I	P	I	I	P	S	*	*	*	*

<i>Trattinnickia**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	*			
CARYOCARACEAE																		
<i>Caryocar**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M			*	
CACTACEAE																		
<i>Opuntia**</i>	-	-	-	-	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*			
CECROPIACEAE																		
<i>Cecropia**</i>	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	M	-	-	-			*	
CLUSIACEAE																		
<i>Clusia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	M	I	M	-	-	*	*	*	*	
<i>Clusia grandiflora</i>	-	M	-	I	-	-	I	I	-	-	-	M	I		*	*	*	
<i>Platonia insignis**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-				*	
<i>Symphonia globulifera</i>	M	-	-	P	I	I	M	P	I	P	I	I	I	*	*	*	*	
Combretum/Melastomataceae	I	I	-	M	-	-	-	-	M	-	-	-	-	*	*	*	*	
CONVOLVULACEAE																		
<i>Ipomoea</i>	-	-	-	M	-	-	I	I	-	-	I	-	-	*	*			
<i>Merremia</i>	-	-	-	-	M	I	M	-	-	-	-	M	-				*	*
CHRYSOBALANACEAE																		
<i>Hirtella**</i>	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		*			
CURCUBITACEAE																		
<i>Cayaponia**</i>	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				*	
CONNARACEAE																		
<i>Comarus**</i>	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-					*

DILLENACEAE

<i>Doliocarpus</i> **	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-			*
EUPHORBIACEAE																	
<i>Acalypha</i>	-	M	-	M	-	-	-	-	-	-	-	M	-	*		*	*
<i>Alchornea</i>	-	-	-	I	-	-	-	M	-	-	-	-	-		*	*	*
<i>Chamaesyce</i> I		M	I	M	I		M		M		M		M	*	*	*	*
<i>Chamaesyce</i> II	-	M	-	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-		*		*
<i>Croton</i>	-	M	-	M	-	-	-	-	M	-	M	-	-	*	*	*	*
EUPHORBIACEAE I	-	-	-	-	-	-	I	I	-	-	M	M	M	*	*	*	*
<i>Euphorbia</i>	-	M	-	M	-	-	-	-	-	-	M	M	-		*	*	*
<i>Omphalea</i>			I			I	I	I	I	I	P	I	M	*	*	*	*
FABACEAE																	
<i>Acacia</i>	-	M	M	M	-	M	-	-	-	-	-	-	-		*	*	*
<i>Anadenanthera</i>	-	-	-	-	-	-	-	M	-	M	M	I	M	*	*	*	*
<i>Andira</i> **	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	*			
<i>Bauhinia</i>	-	-	-	M	-	M	-	-	-	-	-	-	-		*	*	
<i>Bowdichia</i>	-	I	-	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-		*	*	*
<i>Calopogonium</i>	-	-	-	-	-	M	M	-	-	-	-	-	-	*	*		
<i>Cedrelinga</i> **	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				*
<i>Centrosema</i> **	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-		*		
<i>Chamaecrista</i>	-	I	M	I	I	I	I	M	M	-	M	M		*	*	*	*
<i>Cleobulia</i>	-	M	-	-	I	I	I	-	-	-	-	-	-	*	*	*	*
<i>Copaifera</i>	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	M		*		*
<i>Desmodium</i> I	-	M	-	M	-	M	M	-	-	M	M	-	M			*	*
<i>Desmodium</i> II	-	-	M	M	-	M	-	-	-	-	-	-	-	*		*	*

Continuação															
<i>Dolichos</i> **	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	
<i>Erythrina</i> **	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		*
FABACEAE I**	-	-	M	M	M	-	-	-	-	-	-	-	-		*
FABACEAE II**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M		*
<i>Inga</i>	-	M	M	M	M	-	M	-	M	-	-	-	-	*	*
<i>Machaerium</i>	I	I	M	P	M	I	M	M	M	M	I	M	M	*	*
<i>Mimosa caesalpinifolia</i>	M	I	M	M	M	M	M	M	M	M	I	M	M	*	*
<i>Mimosa invisa</i>	-	-	-	I	M	-	-	-	-	-	M	M	M		*
<i>Mimosa pudica</i>	M	M	M	-	-	M	-	-	-	M	M	M	-	*	*
<i>Mimosa</i> sp.	-	-	-	M	-	M	-	-	-	-	-	M	-	*	
<i>Neptunia</i>	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	*	
<i>Paloveopsis emarginata</i> **	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	
<i>Parkinsonia</i> **	-	-	-	-	-	-	-	M	M	-	M	-	-		*
<i>Piptadenia</i>	-	-	-	M	-	-	-	-	M	M	-	M	M	*	*
<i>Pterocarpus</i>	-	M		M	M	-	I	M	M	M	I	-	-	*	*
<i>Sclerolobium</i>	-	-	M	-	-	-	-	-	-	P	M	-	M	*	*
<i>Schrankia</i> I	-	M	-	M	M	M	I	M	M	M	M	-	M	*	*
<i>Schrankia</i> II	-	M	-	-	-	M	-	M	-	-	M	-	-	*	*
<i>Senna</i> I	-	M	-	-	M	I	P	P	M	I	I	M	M	*	*
<i>Senna</i> II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M		M	*	
<i>Stryphnodendron</i>	-	-	-	M	-	-	-	-	M	-	-	-	-	*	
<i>Stylosanthes</i> **	-	-	M	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-		*
<i>Swartzia</i> **	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M		*
<i>Tachigalia</i> **	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	

Continuação																	
GENTIANACEAE**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	M			*
HYPERICACEAE																	
<i>Vismia</i>	-	-	-	-	M	I	I	-	M	-	I	M	M	M	*	*	*
LACISTEMACEAE																	
<i>Lacistema</i>	-	M	-	-	-	-	-	I	M	M	I	-	-	*	*	*	*
LAMIACEAE																	
<i>Hyptis</i>	-	-	M	M	-	M	M	M		P	P	P	M	*	*	*	*
LAURACEAE														*	*	*	*
<i>Ocotea</i>	-	-	I	-	M	-	-	-	M	-	-	-	-		*	*	*
MALPIGHIACEAE																	
<i>Banisteriopsis**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-				*
<i>Byrsonima</i>	-	-	M	-	-	M	M	M	-	-	-	-	-	*	*	*	*
MALVACEAE																	
<i>Erioteca**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M				*
<i>Luehea**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-				*
<i>Manihot</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I		*		*
<i>Sida**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-		*		
MELASTOMATACEAE																	
<i>Mouriri</i>	-	-	I	-	I	I	I	I	I	I	I	M	I	*	*	*	*
<i>Miconia/Tibouchinia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	M	M	M	-	-		*		*
MELIACEAE																	
<i>Trichilia</i>	-	-	-	-	-	-	-	M	-	M	-	-	-		*	*	*
MENISPERMACEAE	-	-	-	-	M	-	M	-	-	M	M	M	M		*	*	*
MORACEAE**	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				*

MYRTACEAE																	
<i>Eucalyptus</i>	-	-	M	M	M	M	M	M	M	-	-	M	M	*	*	*	*
<i>Eugenia</i>	-	-	M	-	-	M	-	M	M	M	M	-	-		*	*	*
<i>Myrcia/Psidium</i>	-	-	P	I	I	M	M	I	M	M	M	I	I	*	*	*	*
MYRSINACEAE																	
<i>Ardisia</i>	-	-	P	-	I	I	-	-	-	-	-	-	-	*		*	*
NYCTAGINACEAE																	
<i>Guapira**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-			*	
ONAGRACEAE																	
<i>Ludwigia</i>	-	M	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*		*
PHYTOLACCACEAE																	
<i>Seguiera**</i>	-	-	M	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-				*
RUBIACEAE																	
<i>Borreria latifolia</i>	-	M	-	M	-	I	-	M	-	-	-	-	-	*	*		*
<i>Borreria verticillata</i>	-	M	M	M	I	I	M	I	-	M	I	I	I	*	*	*	*
<i>Coutarea**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M				*
<i>Declieuxia**</i>	-	-	-	-	-	-	-	I	-	-	-	-	-				*
<i>Guetarda**</i>	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M			*	
<i>Manettia**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-			*	
<i>Posoqueria</i>	-	-	-	M	-	M	I	-	-	-	M	M	M	*	*	*	*
<i>Psicotrya**</i>	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	*			
RUBIACEAE I	-	-	-	-	I	-	I	I	I	-	-	-	-	*	*	*	
RUBIACEAE II**									M								*
RUBIACEAE III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M			*	*

RUBIACEAE IV**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	*			
RUTACEAE																		
<i>Zanthoxylum</i>	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*	
SALICACEAE																		
<i>Casearia I**</i>	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-				*
<i>Casearia II**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M				*	
SAPINDACEAE																		
<i>Paullinia</i>	-	-	-	-	M	-	M	-	-	-	-	-	-	-		*	*	
<i>Serjania**</i>	-	-	-	-	-	-	M	M	-	-	-	-	-	-			*	
<i>Talisia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	M	M	M	*	*		*
SIMAROUBACEAE																		
<i>Picramnia**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	*				
<i>Simarouba</i>	-	-	M	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-			*	*
SOLANACEAE																		
<i>Browallia</i>	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		*	*	
<i>Solanum</i>	-	-	-	-	M	M	M	M	M	-	M	-	-	-	*	*	*	*
IYRIDACEAE																		
<i>Iyris**</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M			*		
Tipos Indeterminados																		
ND1**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-			*	
ND2**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	*			
Total de Tipos Polínicos	12	35	41	43	45	41	38	40	36	35	54	42	53					

Table 2: Occurrence frequency of the pollen types identified in the stingless bees geopolis from December / 2013 to December / 2014, in the municipality of Santa Luzia do Paruá, MA, Brazil (According to Jones and Bryant Jr. 1996: Frequent (> 50%), frequent (20-50%), infrequent (10-20%) and rare (<10%).

Classe de Ocorrência				
Espécies de Abelhas	R (<10%)	I (10 a 20%)	F (21 a 50%)	MF (>50%)
<i>Melipona fasciculata</i>	CYPERACEAE, <i>Zea mays</i> , <i>Amaranthus</i> , <i>Baccharis</i> , <i>Tabebuia</i> I, <i>Trattinnickia</i> , <i>Opuntia</i> , <i>Combretum</i> /MELASTOMATAACEAE, <i>Ipomoea</i> , <i>Merremia</i> , EUPHORBIACEAE, <i>Acalypha</i> , <i>Chamaesyce</i> I, <i>Croton</i> , <i>Desmodium</i> II, <i>Andira</i> , <i>Calopogonium</i> , <i>Cleobulia</i> , <i>Pterocarpus</i> , <i>Sclerolobium</i> , <i>Inga</i> , <i>Mimosa</i> sp., <i>Schrankia</i> II, <i>Stryphnodendron</i> , <i>Lacistema</i> , MENISPERMACEAE, <i>Ardisia</i> , <i>Ludwigia</i> , RUBIACEAE IV, <i>Declieuxia</i> , <i>Posoqueria</i> , <i>Psicotrya</i> , <i>Zanthoxylum</i> , SAPINDACEAE, <i>Picramnia</i> .	<i>Euterpe</i> /Syagrus, <i>Mauritia</i> , <i>Erechtites</i> , <i>Vernonia</i> II, <i>Clusia</i> , <i>Omphalea</i> , <i>Anadenanthera</i> , <i>Piptadenia</i> , <i>Byrsonima</i> , RUBIACEAE I.	POACEAE, <i>Anacardium</i> , <i>Symphonia globulifera</i> , <i>Chamaecrista</i> , <i>Senna</i> I, <i>Mimosa pudica</i> , <i>Mimosa caesalpinifolia</i> , <i>Schrankia</i> I, <i>Mouriri</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Myrcia</i> /Psidium, <i>Solanum</i> .	<i>Atalea speciosa</i> , <i>Vernonia</i> I, <i>Protium</i> , <i>Machaerium</i> , <i>Hyptis</i> , <i>Borreria verticillata</i> .
<i>Melipona flavolineata</i>	CYPERACEAE, <i>Zea mays</i> , <i>Pontenderia</i> , <i>Manguifera</i> , <i>Baccharis</i> , BIGNONIACEAE III, <i>Adenocalymna inundatum</i> , <i>Adenocalymna</i> sp., <i>Clusia grandiflora</i> , <i>Hirtella</i> , EUPHORBIACEAE, <i>Chamaesyce</i> II, <i>Euphorbia</i> , <i>Bauhinia</i> , <i>Paloveopsis emarginata</i> , <i>Tachigalia</i> , <i>Bowdichia</i> , <i>Calopogonium</i> , <i>Centrosema</i> , <i>Cleobulia</i> , <i>Dolichos</i> , <i>Sclerolobium</i> , <i>Senna</i> II, <i>Acacia</i> , <i>Inga</i> , <i>Neptunia</i> , <i>Schrankia</i> II, <i>Lacistema</i> , <i>Manihot</i> , <i>Sida</i> , <i>Trichilia</i> , MENISPERMACEAE, <i>Ludwigia</i> , <i>Borreria latifolia</i> , <i>Posoqueria</i> , <i>Zanthoxylum</i> , SAPINDACEAE, <i>Paullinia</i> , <i>Talisia</i> , <i>Browallia</i> , <i>Xyris</i> , ND37.	<i>Mauritia</i> , POACEAE, <i>Althernantera</i> , <i>Amaranthus</i> , <i>Spondias</i> , BIGNONIACEAE I, <i>Tabebuia</i> I, <i>Tabebuia</i> II, <i>Clusia</i> , <i>Alchornea</i> , <i>Copaifera</i> , <i>Pterocarpus</i> , <i>Anadenanthera</i> , <i>Ocotea</i> , <i>Byrsonima</i> , <i>Miconia</i> /Tibouchina, <i>Serjania</i> .	<i>Euterpe</i> /Syagrus, <i>Tapirira</i> , <i>Thevetia</i> , <i>Vernonia</i> I, <i>Ipomoea</i> , <i>Merremia</i> , <i>Chamaesyce</i> I, <i>Croton</i> , <i>Omphalea</i> , <i>Chamaecrista</i> , <i>Mimosa pudica</i> , <i>Mimosa caesalpinifolia</i> , <i>Piptadenia</i> , <i>Vismia</i> , <i>Mouriri</i> , MENISPERMACEAE, <i>Eugenia</i> , RUBIACEAE I, <i>Solanum</i> .	<i>Atalea speciosa</i> , <i>Anacardium</i> , <i>Protium</i> , <i>Symphonia globulifera</i> , <i>Machaerium</i> , <i>Senna</i> I, <i>Hyptis</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Myrcia</i> /Psidium, <i>Borreria verticillata</i> .
<i>Melipona seminigra</i>	<i>Dichorisandra</i> , CYPERACEAE, <i>Potenderia</i> , <i>Lacmellea</i> , <i>Thevetia</i> , <i>Erechtites</i> , <i>Eupatorium</i> , BIGNONIACEAE II, <i>Adenocalymna inundatum</i> , <i>Hirtella</i> , <i>Clusia</i> , <i>Platonia insignis</i> , <i>Merremia</i> , <i>Cayaponia</i> , EUPHORBIACEAE I, <i>Acalypha</i> , <i>Alchornea</i> , <i>Copaifera</i> , <i>Bauhinia</i> , <i>Bowdichia</i> , <i>Cleobulia</i> , <i>Acacia</i> , <i>Mimosa invisa</i> , <i>Ocotea</i> , MENISPERMACEAE, RUBIACEAE I, <i>Coutarea</i> , <i>Manettia</i> , <i>Zanthoxylum</i> , <i>Casearia</i> II, <i>Simarouba</i> , <i>Browallia</i> , <i>Solanum</i> , ND35.	ARECACEAE, <i>Mauritia</i> , <i>Amaranthus</i> , BIGNONIACEAE I, <i>Cecropia</i> , <i>Chamaesyce</i> I, <i>Croton</i> , <i>Euphorbia</i> , <i>Omphalea</i> , <i>Desmodium</i> I, <i>Pterocarpus</i> , <i>Schrankia</i> I, GENTIANACEAE, <i>Vismia</i> , <i>Byrsonima</i> , <i>Trichilia</i> , <i>Guetarda</i> , <i>Serjania</i> .	POACEAE, <i>Tapirira</i> , <i>Baccharis</i> , <i>Vernonia</i> I, <i>Combretum</i> /MELASTOMATAACEAE, <i>Clusia grandiflora</i> , <i>Chamaecrista</i> , <i>Sclerolobium</i> , <i>Anadenanthera</i> , <i>Mimosa pudica</i> , <i>Piptadenia</i> , <i>Lacistema</i> , <i>Eugenia</i> , <i>Ardisia</i> , <i>Guapira</i> , <i>Posoqueria</i> .	<i>Atalea speciosa</i> , <i>Euterpe</i> /Syagrus, <i>Anacardium</i> , <i>Protium</i> , <i>Machaerium</i> , <i>Senna</i> I, <i>Mimosa caesalpinifolia</i> , <i>Hyptis</i> , <i>Mouriri</i> , <i>Myrcia</i> /Psidium, <i>Borreria verticillata</i> .
<i>Melipona subnitida</i>	<i>Manguifera</i> , ACANTHACEAE, <i>Vernonia</i> I, <i>Caryocar</i> , <i>Clusia</i> , <i>Commorus</i> , <i>Alchornea</i> , <i>Euphorbia</i> , FABACEAE III, <i>Desmodium</i> II, <i>Senna</i> II, <i>Swartzia</i> , <i>Stylosanthes</i> , <i>Cedrelinga</i> , <i>Neptunia</i> , <i>Stryphnodendron</i> , <i>Banisteriopsis</i> , <i>Erioteca</i> , <i>Luehea</i> , <i>Manihot</i> , <i>Miconia</i> /Tibouchina, <i>Ludwigia</i> , RUBIACEAE I, RUBIACEAE III, <i>Borreria latifolia</i> , <i>Declieuxia</i> , <i>Talisia</i> , <i>Simarouba</i> .	<i>Mauritia</i> , <i>Tapirira</i> , <i>Spondias</i> , BIGNONIACEAE I, <i>Tabebuia</i> I, <i>Tabebuia</i> II, <i>Doliocarpus</i> , <i>Chamaesyce</i> II, <i>Bowdichia</i> , <i>Stylosanthes</i> , <i>Schrankia</i> II, <i>Lacistema</i> , <i>Ocotea</i> , <i>Ardisia</i> , <i>Seguiera</i> , <i>Casearia</i> I.	<i>Euterpe</i> /Syagrus, CYPERACEAE, <i>Althernantera</i> , <i>Thevetia</i> , <i>Baccharis</i> , <i>Clusia grandiflora</i> , <i>Combretum</i> /MELASTOMATAACEAE, <i>Croton</i> , FABACEAE I, <i>Cleobulia</i> , <i>Parkinsonia</i> , <i>Pterocarpus</i> , <i>Anadenanthera</i> , <i>Inga</i> , <i>Mimosa pudica</i> , <i>Mimosa invisa</i> , <i>Mimosa</i> sp., <i>Piptadenia</i> , <i>Vismia</i> , <i>Hyptis</i> , <i>Byrsonima</i> , <i>Trichilia</i> , MENISPERMACEAE, <i>Eugenia</i> , <i>Posoqueria</i> .	<i>Atalea speciosa</i> , POACEAE, <i>Anacardium</i> , <i>Protium</i> , <i>Symphonia globulifera</i> , <i>Chamaesyce</i> , <i>Omphalea</i> , <i>Desmodium</i> I, <i>Chamaecrista</i> , <i>Machaerium</i> , <i>Senna</i> I, <i>Mimosa caesalpinifolia</i> , <i>Schrankia</i> I, <i>Mouriri</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Myrcia</i> /Psidium, <i>Borreria verticillata</i> .

Discussion

No trichomes were observed in the geopropolis samples in the four *Melipona* species studied, which corroborates the observations of Barth & Luz (2003), Barth (2006), Barth & Freitas (2015) in other Brazilian states. This suggests that lack of trichomes and the presence of minerals and constituent soils are characteristic of geopropolis, in contrast to propolis produced by *Apis mellifera*. Hyphae and fungal spores, as well fern and bryophyte spores were nearly constant in geopropolis samples. These materials were likely transported by wind, where they fell onto the fresh, sticky resins prior to bee collection (Freitas et al., 2013).

Pollen richness was highest in samples from *Melipona subnitida* colonies (107 types), followed by *M. flavolineata* (98) and *M. seminigra* (93). As pollen in the geopropolis is a result of "contamination" from the air and interior colony food stocks, it probably represents stronger foraging effort using more diverse plant species for these three bee species compared to *M. fasciculata*, which had far fewer pollen types (64) in geopropolis samples collected throughout the year. For several months, *Melipona flavolineata*, *M. fasciculata* and *M. seminigra* samples were more similar to each other than to those of *M. subnitida*, however, *M. fasciculata* geopropolis had fewer pollen types than the other three species. A total of 121 pollen types were observed in a study by Ribeiro, De Albuquerque & Da Luz (2016), in which the authors sampled 120 geopropolis samples from five *M. fasciculata* colonies from two distinct regions of Maranhão (Cerrado and periodically flooded fields); this value is double the value found in the current study. These differences in pollen counts likely reflect differences in bee foraging habits among vegetation types, and this factor should be taken into consideration in future studies.

The Meliponini are considered generalist species, and individuals have physical, physiological, and behavioral abilities which allow them to visit several types of flowers; they are thus numerically dominant among the visiting floral insects (Ramalho, 2004). Roubik (1981) mentioned that foraging behavior in *Meliponini* species is quite diversified, leading to the classification as generalists, as also indicated by Absy et al. (1984), Engel & Dingemans-Bakels (1980), Kleinert-Giovannini & Imperatriz-Fonseca (1987) and Michener (1979). According to Marques-Souza et al. (1993), this generalist foraging behavior is primarily due to the short flowering period of most plants, rather than to other external factors such as competition with other floral visitors. However, Kerr et al. (1986, 1987), Guibu et al. (1988) and Ramalho, Kleinert-Giovannini & Imperatriz-Fonseca (1989) emphasized that these bees are generally selective and try to explore several food

sources. Wilms, Imperatriz-Fonseca & Engels (1996) mention that *Melipona* species may have acquired preferences for certain flowers via co-evolution. Guibu et al. (1988), Marques-Souza et al. (1993) and Marques-Souza (1996) warn us that possible floral preferences or seasonal food reduction may be related to exploitation of a few sources. Among the pollen grains identified in the geopropolis studied here, several are from plants with a short flowering period, such as *Adenocalymna inundatum*, *Eicchornia*, *Eupatorium*, *Copaifera*, *Ludwigia*, *Myrcia/Psidium*, *Tabebuia*, *Tapirira*, *Talisia*, *Schinus*, and *Zanthoxylum*, among others.

The pollen grains in bee products are natural markers and therefore, pollen types restricted to the geopropolis of one species can give indication of trophic preferences, especially when they differ within the same collection area. It has been suggested that bees may present floral preferences which serve to optimize the costs and benefits of foraging (Ramalho, Silva & Carvalho, 2007). For example, they may prefer one source over another due to ease of collection, or resource quantity or quality, or as a means to avoid interactions with competitors (Cortopassi-Laurino & Ramalho, 1988). However, the presence of pollen grains in propolis and geopropolis does not always indicate which flowers constitute the diet of adult or juvenile bees. This is because pollen grains could have been carried by the wind, or could represent sedimented pollen content from soil used by the native bees to produce geopropolis. Pollen grains may also be deposited inadvertently while bees search for sources of oils and floral resins for the construction of nests and food pots. Further, pollen present on the body of a bee does not necessarily indicate that the species is a pollinator of that plant, and even if it is, it does not provide information about the efficiency of pollination. Behavioral studies of floral visitors and pollination systems, as well as studies of intraspecific pollen deposition are thus necessary. Similarly, the presence of pollen on the body cannot provide reliable information as to whether a bee species is generalist or specialist, because this pollen represents only part of the trophic niche it occupies (Cane & Sipes, 2006).

The pollen types common to the stingless bees studied facilitated phytogeographic characterization of the samples through interpretation of flora of local origin. Pollen studies are of fundamental importance for knowledge of regional apicultural flora (Absy et al., 1996). Pollen types from anemophilic or non-nectar plants in the region such as *Alternanthera*, *Acalypha*, *Cecropia*, *Cyperaceae* and *Poaceae* were found in our samples, as well fern and bryophyte spores. Barth (2006) emphasizes the importance of anemophilic pollen types, indicating that these pollen grains can adhere to resin during the manufacture of the geopropolis. This may provide information about the phytogeographic region of production, and may indicate the presence of degraded areas

with pioneer vegetation (Menezes & Araújo, 2004, 2005; Menezes, Peixoto & Araújo, 2005). Some plant species are strictly polliniferous, in which case bees contaminate geopropolis after pollen storage, infusing the final product with both secondary and predominant pollen. This occurs in Myrtaceae (some species, since *Psidium guajava* and *Eucalyptus* are sources of resin for bees), Poaceae, and the genus *Mimosa* (Barth, 1989).

Fabaceae (Caesalpinioideae, Faboideae and Mimosoideae) had high richness in pollen types (39). The Fabaceae family is one of the largest plant families, and is diverse with respect to habits, ecological preferences, and mechanisms of maintenance, defense and reproduction (Viana et al., 2006). The genus *Mimosa* was well represented in the current study, and included *M. caesalpinifolia*, *M. pudica*, *M. invisa* and *Mimosa* sp. This is a legume genus with the highest diversity in the Caatinga (Queiroz, 2009), containing plants that supply a large quantity of pollen to bees (Ramalho et al., 1990; Barth, 1998) and which are commonly found in dry areas. Pollen grains from this genus are commonly found in Brazilian propolis, and *Mimosa verrucosa* is one of the most representative types in propolis from Bahia (Freitas et al., 2011). In red propolis in the Brazilian northeast, pollen from *M. scabrella*, *M. verrucosa* and *M. caesalpinifolia* are common (Luz et al., 2009).

The Rubiaceae family was also well-represented in the samples (11 types), with *Borreria latifolia* and particularly, *B. verticillata*. In the propolis of *Scaptotrigona* aff. *postica* in Maranhão, *Borreria verticillata* type was also common (Souza et al., 2015). The genus *Borreria* has around 100 species (Cabral, 1991) distributed in tropical and subtropical regions of the America, Africa, Asia and Australia, with highest diversity in Brazil (Steyermark, 1972). Gonçalves, Rêgo & Araújo (1996) in their study of floral resources used by social bees observed that *B. verticillata* was the most visited species in the municipality of Alcântara in Maranhão. This species is considered a weed and invades agricultural areas and residential backyards and gardens. Its flowers are commonly visited by several species of native bees (Souza et al., 2015), and the high percentage observed mainly in the samples from *Melipona fasciculata* demonstrate its trophic importance for stingless bees in the study área.

Attalea speciosa, *Euterpe/Syagrus* and *Mauritia* (Arecaceae) were common pollen types in samples in the current study. *Attalea* is popularly known as Babassu, and is native to the transition zone between Cerrado and the southern open Amazon forest (Albiero et al., 2007). Several species of this family are visited by bees due to prolonged flowering and high abundance of pollen in the inflorescence (Oliveira, Absy & Miranda, 2009). *Euterpe* may be represented by the species *Euterpe edulis*, popularly known as

"palmito juçara". This species is found in preserved forests and is currently registered as vulnerable (Centro Nacional de Conservação da Flora, 2015) due to exploitation for the consumption of heart of palm, which has led to reduced natural regeneration (Reis & Reis, 2000). According to Dorneles et al. (2013), *Euterpe edulis* has entomophilic pollination, being visited by several species of bees including *A. mellifera* (considered an effective pollinator of the species). According to these authors, both male and female flowers have nectar. The *Euterpe/Syagrus* type is also found very frequently in *Apis mellifera* honey in preserved Atlantic forest in the southern region of São Paulo (Bosco, 2015). The Anacardiaceae family was represented in the samples with *Anacardium*, *Mangifera*, *Spondias* and *Tapirira*. Nectar is the floral reward offered to visitors in most species of this family. Luz et al. (2009) found *Anacardium* and *Tapirira* pollen in red propolis in northeastern Brazil, and considered these species to be among the possible sources of resin for those study locations.

The family Pontederiaceae was represented by the *Eichhornia* and *Pontederia* types. Ribeiro et al. (2016) identified *Neptunia* and *Pontederia* types in the Palmeirândia samples (periodically flooded fields) in Maranhão geopropolis. Martins et al. (2011) analyzed the honey of 'tiúba' and also found these pollen types to be significant. *Neptunia plena* (L.) Benth. ('tripa de vaca'), *Eichhornia azurea* (Sw.) ('aguapé'), and *Pontederia parviflora* Alexander. ('cebola') are typical of flooded areas. Several species of *Pontederia* are cited as important for *Apis mellifera* in the Pantanal, including *P. parviflora*, which flowers abundantly from April to May and from August to September (Salis, Reis & Marcondes, 2009). These types are likely derived from food stocks from within the colonies, since their frequencies are low and there is no indication that they are resinous plants. However, they were important to statistically differentiate the samples, because they were rare pollen types (F.O <10%) for the bees.

The family Asteraceae was represented in our samples by the types *Baccharis*, *Eupatorium*, *Erechtites*, *Vernonia* Type I and Type II. It is considered by some authors to be one of the families with high importance for pollen production (Almeida-Muradian et al., 2005). According to Ramalho et al. (1990), the abundance of apicultural plants of this family is indicative of transition regions of shrub and herbaceous habits. Species of the Asteraceae family occurred in several samples of brown propolis from Rio de Janeiro state, and are highly sought after by *Apis mellifera* for collection of pollen and néctar (Freitas et al., 2010). Indigenous bees also seek resources in these families, although less commonly (Barros et al., 2013; Oliveira et al., 2009; Ribeiro et al., 2016).

Pollen grains frequencies in resinous plants are often not statistically significant in propolis and geopropolis, thus other botanical elements are used to identify these species (Bastos, Oliveira & Soares, 2000; Montenegro, Timmermann & Peña, 2000; Montenegro, Peña & Timmermann, 2001). However, even at low values, pollen presence should be taken into account. Some pollen types observed at low frequencies may indicate important resin sources for bees (Barros et al., 2013; Ribeiro et al., 2016). Highlighted in the present study is the shrub *Ardisia* (Primulaceae), a very polliniferous genus containing species with branches that secrete resin. The herb *Hyptis* (Lamiaceae) is indicated by Park et al. (2002) as one of the sources of resin for northeastern propolis, while *Vismia* (Hypericaceae), commonly known as ‘lacre’, is found on the northeastern coast and produces a reddish exudate (Absy & Kerr, 1977).

Caryocar (Caryocaraceae) species are native to the Cerrado, and popularly known as ‘pequi’. These species are considered a very attractive for stingless bees, and are used economically for extraction of oils (Rêgo et al., 2007). The *Myrcia/Psidium* (Myrtaceae) pollen type is one of the possible sources of resin, particularly goiabeira (*Psidium guajaba* L.) (Oliveira & Bastos, 1998); *Eucalyptus* (Myrtaceae) is a genus that produces a large amount of pollen, and was indicated as one of the sources of resin for propolis in Brazil (Barth, 1998; Barth et al., 1999; Bastos, 2001; Lopes, Bankova & Sforcin, 2003; Barth & Luz, 2003; Barros et al., 2013; Freitas et al., 2010; Matos et al. 2014; Ribeiro et al., 2016).

Protium (Burseraceae) is a tree commonly called "breu-branco" because it exudes an oily and amorphous resin with a characteristic aroma (Oliveira et al., 2005). *Protium heptaphyllum* is widely used by stingless bees in Amazonas (Oliveira et al. 2009). *Baccharis* (Asteraceae) species, particularly *Baccharis dracunculifolia* DC. (commonly known as ‘alecrim-do-campo’ or ‘vassourinha’) are native to Brazil and occur in abandoned pastures and areas undergoing succession in Cerrado (Park et al., 2004). *B. dracunculifolia* has tectorial and glandular trichomes on young leaves that secrete volatile and aromatic oils, which are collected by *Apis mellifera* (Bastos, 2001; Spring, 2002; Sawaya et al., 2004; Salatino et al., 2005; Teixeira et al., 2005).

Pollen types of the family Anacardiaceae (*Anacardium*, *Tapirira* and *Spondias*), were also found in archaeological samples of propolis (Freitas et al., 2002) and geopropolis (Barth et al., 2009). These serve as possible sources of red resin for red propolis (Luz et al., 2009), secreted by gum-resin channels/cavities and usually associated with phloem (Metcalf & Chalk, 1950). Among all the families of resinous plants observed in our analyses, Clusiaceae (with the pollen types *Clusia*, *Clusia grandiflora*, *Symphonia globulifera* and *Platonia insigni*) stand out because they are derived from

species known to produce terpenoid resins (Bittrich & Amaral, 1996, Gonçalves-Alvim, 2001). *Clusia* sp. (Ishida et al., 2011) and the other species of the Clusiaceae family have been shown to contain benzophenones typical of metabolites from floral resins (Ishida et al., 2011). *Symphonia globulifera* Linn. F. is a tree species with primary occurrence in the Amazonian floodplain. This species has commercial value as its trunk is used in civil construction (Jardim & Zoghbi, 2008), and its resin is mixed with imbaúba coal (*Cecropia*) to prepare a black bitumen for waxing candle wicks (Pesce, 2009) and caulking vessels (Ribeiro, 1999). *Platonia insignis* (bacurizeiro) has a center of origin in the eastern Amazon, occurring spontaneously in all states of the northern region and in Mato Grosso, Maranhão, and Piauí. Ferreira (2008) observed that the bacurizeiros contain abundant resin, and the species has economic importance since it occurs in vegetation and has high natural population density.

Conclusions

Using palynological methods we were able to verify the phytogeographic origin of the geopropolis samples from *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* and *M. subnitida* colonies in an Amazonian forest area with Cerrado in westerns Maranhão state. These results yield information for use in meliponiculture regarding possible resin sources for locally produced geopropolis, helping direct efforts to specific production that will serve a certain segment of the industry.

Anacardium, *Ardisia*, *Baccharis*, *Caryocar*, *Clusia*, *Clusia grandiflora*, *Eupatorium*, *Eucalyptus*, *Hyptis*, *Myrcia/Psidium*, *Platonia insignis*, *Protium*, *Spondias*, *Symphonia globulifera*, *Tapirira* and *Vismia* were the main pollen types utilized by stingless bees in the study area. Possible trophic preferences were indicated by the presence of pollen types restricted to single bee species. Geopropolis samples from *Melipona flavolineata*, *M. fasciculata*, and *M. seminigra* were similar in several months of the sampling period, and differed from those of *M. subnitida*. Of the ten colonies studied of four *Melipona* species, the geopropolis of *M. fasciculata* accounted for nearly half of the pollen types discovered. This should be taken into account in future research that examines the foraging habits of these bees among different vegetation types in Maranhão.

The palynological survey of geopropolis in Maranhão provides a means for correlation of results with those acquired using other analytical tools, including pharmacognostic characterization or other active principles that aim to establish data for quality control and product standardization.

Acknowledgements

The Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) provided a scholarship to the first author and project funding. The Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and the Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) awarded research productivity grants the second and third authors, respectively. We are grateful to the Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo for loaning facilities and equipment from the Núcleo de Pesquisa em Palinologia. We thank professor Dr. Eleuza Gomes Tenório and the Universidade Estadual do Maranhão for help with collections and implementation of various stages of the project. Finally, we are grateful to the meliponiculture workers for providing the meliponary and bee boxes for the project.

References:

- Absy, M.L., Kerr, W.E. Algumas plantas visitadas para obtenção de pólen por operárias de *Melipona seminigra merrillae* em Manaus. (1977). *Acta Amazonica*, 7 (3), 309-315.
- Absy, M. L., Camargo, J. D., Kerr, W. E., Miranda, I. D. A. (1984). Espécies de plantas visitadas por Meliponinae (Hymenoptera; Apoidea), para coleta de pólen na região do médio Amazonas. *Revista Brasileira de Biologia*, 44 (2), 227-237.
- Absy, M. L., Kerr, W. E., Marques-Souza, A.C., Camargo, J.M.F. (1996) Estudos palinológicos com Meliponideos na Amazônia. In *Anais do XI Congresso Brasileiro de Apicultura*, Teresina (PI). 281-285.
- Albiero, D., Maciel, A.J.S., Lopes, A.C., Gamero, C.A. (2007). Proposta de uma máquina para colheita mecanizada de babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) para a agricultura familiar. *Acta Amazônica*, 37, 337-346.
- Almeida-Muradian, L.B., Pamplona, L.C., Coimbra, S., Barth, O.M. (2005). Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 105-111.
- Barth, O.M. O. (1989). Pólen no mel brasileiro. Rio de Janeiro: Editora Luxor, 151p.
- Barth, O.M. (1998). Pollen analysis of Brazilian propolis. *Grana*, 37,97-101.
- Barth, O. M., Dutra, V. M. L., JUSTO, R. L. (1999). Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil Meridional. *Ciência Rural*, Santa Maria, 29, 663-667.

Barth, O.M., Luz, C.F.P. (2003). Palynological analysis of Brazilian geoprópolis sediments. Grana, 42, 121-127.

Barth, O.M. (2006). Palynological analysis of geopropolis samples obtained from sex species of Meliponinae in the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil. Apiacta, 41, 71-85.

Barth, O., Barros, M., Freitas, F. O. (2008). Análise palinológica em amostras arqueológicas de geoprópolis do vale do Rio Peruaçu, Januária, Minas Gerais, Brasil. Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico, 277-290.

Barth, O.M., Luz, C. F. P.(2009). Palynological analysis of Brazilian red propolis samples. Journal of Apicultural Research and Bee World, 48 (3), 181-188.

Barth, O.M., Freitas, A.S., Matsuda, A.H., Almeida-Muradian, B.A. (2013). Botanical origin and Artepillin-C content of Brazilian propolis samples. Grana 52: 129- 135. Taken from: <http://dx.doi.org/10.1080/00173134.2012.747561>.

Barth, O.M., Freitas, A.S. (2015). Palynology as a Tool to Distinguish between Propolis and Geopropolis: Southern Brazilian Samples. Open Access Library Journal, 2: e2217. Taken from: <http://dx.doi.org/10.4236/oalib.1102217>.

Barros, M. H. M. R., Luz, C. F. P., ALBUQUERQUE, P. M. C. (2013). Pollen analysis of geopropolis of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (Meliponini, Apidae, Hymenoptera) in areas of Restinga, Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. Grana, 52 (22), 81-92.

Bastos, E. M. A. F., Oliveira, V. D. C., Soares, A. E. E. (2000). Microscopic characterization of the green propolis, produced in Minas Gerais State, Brazil. Honeybee Science, 21(4), 179-180.

Bastos, E. (2001). Origem botânica e indicadores de qualidade da “própolis verde” produzida no Estado de Minas Gerais, Brasil. 2001 (Doctoral dissertation, Tese (Doutorado)– Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto).

Batista, M. C. A., Abreu, B. V. D. B., Dutra, R. P., Cunha, M. S., Amaral, F. M. M. D., Torres, L. M. B., Ribeiro, M. N. D. S. (2016). Chemical composition and antioxidant activity of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* (Meliponinae) in flooded fields and cerrado areas of Maranhão State, northeastern Brazil. Acta Amazonica, 46(3), 315-322.

Biesmeijer, J. C., Slaa, E. J., Castro, M. S. de., Viana, B. F., Kleinert, A., Fonseca, V.L. I. (2005). Connectance of Brazilian social bee - food plant networks is influenced

by habitat, but not by latitude, altitude or network size. *Biota Neotropica*, Campinas, 5,

Bittrich, V., Amaral, M. C. E. (1996). Pollination biology of *Symphonia globulifera* L. f. (Clusiaceae). *Plant Systematics Evolution*, 200, 101-110.

Bittrich, V., Amaral, M.C.E. (1997). Floral biology of some *Clusia* species from Central Amazonia. *Kew Bulletin*, 52 (3), 617-635.

Bosco, L.B. (2015). Origem botânica e fitogeográfica do mel e cargas de pólen provenientes da comunidade quilombola Porto Velho, município de Iporanga, Vale do Ribeira (São Paulo). Dissertação. Instituto de Botânica. 170 p. Cabral, E.L. (1991). Rehabilitación del género *Galianthe* (Rubiaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 27, 217-231.

Cane, J. H., Sipes, S. (2006). Characterizing floral specialization by bees: analytical methods and a revised lexicon for oligolecty. *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization*, 99, 122.

Carreira, L.M.M. (1976). Morfologia polínica de plantas lenhosas da Campina. *Acta Amazonica* 6: 247-269.

Carreira, L. M. M. (1996). Catálogo de pólen das leguminosas da Amazônia brasileira. Museu Goeldi; Belem, Para, Brasil: Museu Goeldi.

Carreira, L. M. M., Barth, O. M. (2003). Atlas de Pólen da vegetação de canga da Serra de Carajás (Pará, Brasil). Museu Paraense Emílio Goeldi.

Cortopassi-Laurino, M., Ramalho, M. (1998). Pollen harvest by Africanized *Apis mellifera* and *Trigona spinipes* in São Paulo: botanical and ecological views. *Apidologie*, 19 (1), 1-24.

Dorneles, L. L., Zillikens, A., Steiner, J., Padilha, M. T. S. (2013). Biologia da polinização de *Euterpe edulis Martius* (Arecaceae) e associação com abelhas sociais (Apidae: Apini) em sistema agroflorestal na Ilha de Santa Catarina. *Iheringia. Série Botânica.*, 68(1), 47-57.

Engel, M. S., Dingemans-Bakels, F. (1980). Nectar and Pollen Resources for Stingless Bees (Meliponinae, Hymenoptera) in Surinam (South America). *Apidologie*, 11(4), 341-350.

Erdtman, G. (1960). The acetolysis method. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54: 561-564.

Ferreira, M. S. Bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) em florestas secundárias: possibilidades para o desenvolvimento sustentável no Nordeste Paraense. (2008). 212 p. Tese (Doutorado) – Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Freitas, F. O. (2002). Uso da Palinologia em Amostras Arqueológicas de Própolis na Reconstituição da Vegetação Histórica de uma Região. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Brasília-DF.

Freitas, M. O., Ponte, F. A., Lima, M. A. S., Silveira, E. R. (2008). Flavonoids and triterpenes from the nest of the stingless bee *Trigona spinipes*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 19 (3) 532-535.

Freitas, A.S., Barth, O.M., Luz, C.F P. (2010). Própolis marrom da vertente atlântica do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação palinológica. Revista Brasileira de Botânica, 33 (2), 341-352.

Freitas, A. D. S., Barth, O. M., de Oliveira Sales, É., Matsuda, A. H., De AlmeidaMuradian, L. B. (2011). A palynological analysis of Brazilian propolis samples. Journal of ApiProduct and ApiMedical Science, 3(2), 67-74.

Freitas, A. S., Vit, P., Barth, O. M. (2012). Pollen Profile of Geopropolis Samples Collected by Native Bees (Meliponini) in Some South American Countries. Sociobiology, 59, 1465-1482.

Freitas, A.S., Vit, P., Barth, O.M. (2013). Pollen analysis of geopropolis and propolis from stingless bees. pp. 1-7. In Vit P & Roubik DW, eds. Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes; Mérida, Venezuela.

Taken from: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/35292>.

Gonçalves, S.J.M., Rêgo, M.M.C., Araújo, A. (1996). Abelhas sociais (Hymenoptera: Apidae) e seus recursos florais em uma região de mata secundária, Alcântara, MA, Brasil. Acta Amazônica. 26, 55-68.

Gonçalves-Alvim, S.J. (2001). Resin-collecting bees (Apidae) on *Clusia palmicida* (Clusiaceae) in a riparian forest in Brazil. Journal of tropical ecology, 17(01), 149-153.

Guibu, L.S., Ramalho, M., Kleinert-Giovannini, A., Imperatriz-Fonseca, V. L. (1988). Exploração dos recursos florais por colônias de *Melipona quadrifasciata* (Apidae, Meliponinae). Revista Brasileira de Biologia, 48, 299-305.

Heard, T. A. (1999). The role of stingless bees in crop pollination. Annual Review of Entomology, Palo Alto, 44, 183-206.

Hueck, K. (1972). As florestas da América do Sul. São Paulo: Polígono, 206-239.

Ishida, V. F. D.C., Negri, G., Salatino, A., Bandeira, M.F.C.L. (2011). A new type of Brazilian propolis: Prenylated benzophenones in propolis from Amazon and effects against cariogenic bacteria. Food Chemistry, 125, 3, 966-972.

- Jardim, M. A. G., Zoghbi, M. G. B. (2008). A flora da Resex Chocoaré – Mato Grosso (PA): Diversidade de usos. Belém: MPEG. 36-76p.
- Jones, G.D., Bryant JR, V.M. (1966). Melissopalynology. In Jansonius J and McGregor DC (Eds), Palynology: principles and applications. Salt Lake City: American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation, 933-938.
- Kaminski, A. C., Absy, M. L. (2006). Bee visitors of three species of *Clusia* (Clusiaceae) flowers in Central Amazonia. *Acta Amazonica*, 36, 259-264.
- Kerr, W.E., Absy, M.L., Marques-Souza, A.C. (1986). Espécies nectaríferas e poliníferas utilizadas pela abelha *Melipona crassipes fasciculata* (Meliponinae, Apidae) no Maranhão. *Acta Amazônica*, 16/17, 145- 156.
- Kerr, W.E. (1987). Sex determination in bees. XXI. Number of XO-heteroalleles in a natural population of *Melipona compressipes fasciculata*. *Insects Sociaux*, 34 (4), 274–279.
- Kisser, J. (1935). Bemerkungen Zum Einschluss in glycerim Z. Hiss. 51 p.
- Kleinert-Giovannini, A., Imperatriz-Fonseca, V. L. (1987). Aspects of the trophic niche of *Melipona marginata marginata* Lepeletier (Apidae, Meliponinae). *Apidologie*, 18, 69-100.
- Leal, A., Berrío, J. C., Raimúndez, E., Bilbao, B. (2011). A pollen atlas of premontane woody and herbaceous communities from the upland savannas of Guayana, Venezuela. *Palynology*, 35(2), 226-266.
- Lopes, F. C., Bankova, V., Sforcin, J.M. (2003). Effect of three vegetal sources of propolis on macrophages activation. *Phytomedicine*, 10, 343-343.
- Luz, C. F. P., Barth, O.M., Bacha Junior, G. L. (2009). Análise palinológica de própolis vermelha do Brasil: subsídios para a certificação de sua origem botânica e geográfica. *Mensagem Doce*, 102, 10-15.
- Marques-Souza, A.C., Absy, M. L., Condé, P. A. A., Coelho, H. A. (1993). Dados da obtenção de pólen por operárias de *Apis mellifera* no município de Ji-Paraná (RO), Brasil. *Acta Amazônica*, 23,1, 57-76.
- Marques-Souza, A. C. (1996). Fontes de pólen exploradas por *Melipona compressipes manaosensis* (Apidae: Meliponinae), abelha da Amazônia Central. *Acta Amazonica*, 26(1/2), 77-86.
- Martins, A.C.L., Rêgo, M.C., Carreira, L., Albuquerque, P.M.C. (2011). Espectro polínico do mel de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidae). *Acta Amazônica*, 41 (2), 183 – 190.

Matos, V. R., Alencar, S. M., Santos, F. A. (2014). Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L.(Apidae) in an area of the Semiarid Region of Bahia, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86 (1), 407- 418.

Mccune, B., Mefford, M. J. (1999). PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data, version 4.10. MjM Software Design, Oregon.

Melhem, T. S., DE Abreu, L. C. (1981). Grãos de pólen de Angiospermas aquáticas. *Hoehnea*.

Menezes, L.F.T., Araújo, D.S.D. (2004). Regeneração e riqueza da formação arbustiva de Palmae em uma cronosequência pós-fogo na Restinga da Marambaia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 8, 771-780.

Menezes, L.F.T., Araújo, D.S.D. (2005). 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.

Menezes, L.F.T., Peixoto, A.L.P.; Araujo, D.S.D. (2005). *História Natural da Marambaia*. Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. Michener, C.D. (1974). *The social behavior of the bees*. Harvara University. Press, 404p.

Michener, C. D. (1979). Biogeography of the bees. *Annals of the Missouri botanical Garden*, 277-347.

Michener, C. D. (2000). *The bees of the world*. JHU Press.

Ministério do Trabalho e emprego. (2012). *Identidade coletiva e organização produtiva dos apicultores do alto turi maranhense: o caso da Turimel*.

Minitab. (2008). *Minitab for Windows* [Minitab-Inc, USA] Versão 15.English Ink Copyright [C].

Moura, C.O., Absy, M.L., Santos, F.A.R., Marques-Souza, A.C. (2004). Morfologia polínica de espécies de várzea e de igapó da Amazônia Central. *Acta Amazônica*, 34, 15-19.

Montenegro, G., Timmermann, B. N., Peña, R. (2000). Pollen grains and vegetative structures in propolis as indicators of potential drugs in Chilean plants. *Phyton – International Journal of Experimental Botany*, 66, 15-23.

Montenegro, G., Peña, R., Timmermann, B. N. (2001). Botanical resources for propolis in an apiary network in Central Chile. *Phyton – International Journal of Experimental Botany*, 50, 191-201.

Müller, I. (1947). Die pollen analytische nachweis der menschlichen Besiedlung im Federsee-und bodenseegebiet. Planta. 36p.

Muniz, F.H. (2011). Efeito do manejo florestal sobre a composição florística e fitossociologia da floresta na Amazônia maranhense. In Amazônia Maranhense: Diversidade e Conservação – Belém: MPEG, 328.

Nogueira-Neto, P. (1997). Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. São Paulo, Nogueirapis.

Oliveira, V.C., Bastos, E.M. (1998). Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) visando a identificação da origem botânica da própolis. Acta Botânica Brasílica, 12,3, 431-439.

Oliveira, F.A., Costa, C.L., Chaves, M.H., Almeida, F. R., Cavalcante, I.J., Lima, A.F., Lima, R.C., JR, Silva R.M., campos, A.R., Santos, F.A., Rao, V.S. (2005). Attenuation of capsaicin-induced acute and visceral nociceptive pain by α and β amyrin, a triterpene mixture isolated from *Protium heptaphyllum* resin in mice. Life Sciences, 77, 2942-2952.

Oliveira, F. P.M., Absy, M.L., Miranda, I.S. (2009). Recurso polínico coletado por abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) em um fragmento de floresta na região de Manaus-Amazonas. Acta Amazonica, 39,3, 505-518.

Palacios, C. R., ludlw, W. R., Villanueva, G. R. (1991). Flora palinologica de la reserva de la biosfera de Sian Ka'An Quintana Rôo, Mexico. Chetumal: Centro de Investigaciones Quintana Roo.

Park, Y.K., Alencar, S.M., Scamparine, A.R.P., Aguiar, C.L. (2002). Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. Ciência Rural, 2, 997-1003.

Park, Y. K., Paredes-Guzman, J. F., Aguiar, C. L., Alencar, S. M., Fujiwara, F. Y. (2004). Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 5, 1100-1103.

Pesce, C. (2009). Oleaginosas da Amazonia, 2. ed. Belém: MPEG/NEAD.

Queiroz, L. P. (2009). Legumes of the Caatinga. Royal Botanic Garden Edinburgh.

Ramalho, M., Kleinert-Giovannini, A., Imperatriz-Fonseca, V.L. (1989). Utilization of floral resources by species of *Melipona* (Apidae, Meliponinae): floral preferences. Apidologie, 20, 185-195.

Ramalho, M., Kleinert-Giovannini, A., Imperatriz-Fonseca, V. L. (1990). Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and *Trigonini*) and africanized honeybees (*Apis mellifera*) in habitats: a review. *Apidologie*, 21, 469-488.

Ramalho, M., Silva, M.D., Carvalho, C.A.L. (2007). Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera, Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae), no domínio Tropical Atlântico. *Neotropical Entomology*, 36, 38-45.

Ramalho, M. (2004). Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. *Acta botânica brasileira*, 18, 1, 37-47.

Rêgo, M.M.C., albuquerque, P. M. C., Ramos, M. C., Mendes, F.N. (2007). Abelhas do cerrado s. l. dos “Gerais de Balsas”. In *Cerrado Norte do Brasil* (L. BARRETO, org.) 157-163.

Rêgo, M.C., Albuquerque, P. M. C., Venturieri, G. C. (2008). Menos locais para ninhos. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, 42, 50-51.

Reis, M.S., Reis, A. (2000). *Euterge edulis* Martius–Palmiteiro: Biologia, Conservação e Manejo. *Herbário Barbosa Rodrigues*, Itajaí.

Ribeiro, J.E.L.S. (1999). *Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/DFID, Midas Printing, Manaus, Brasil, p. 816.

Ribeiro, M.H.M., De Albuquerque, P.M.C., Da Luz, C.F.P. (2016). 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*, 1-18.

Roubik, D.W. (1981). Comparative foraging behavior of *Apis mellifera* and *Trigona corvina* (Hymenoptera: Apidae) on *Baltimora recta* (Compositae). *Revista de Biologia Tropical*, 29 (2), 177-183.

Roubik, D. W., Moreno, J. E. (1991). *Pollen and Spores of Barro Colorado*. New York: Missouri Botanical Garden.

Salatino, A., Teixeira, E.W., Negri, G. (2005). Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 33- 38.

Salis, M.S., Reis, V.D.A., Marcondes, A.N. (2009). Flowering of Bee Plants in the Pantanal Wetland Based on Herbarium and Literature Information. Corumbá: EMBRAPA Pantanal. Research and development bulletin, 46 pp. Taken from: <<http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/BP91.pdf>>.

Santos, F. A., Bastos, E. M. A. F., Maia, A. B. R. A., Uzeda, M., Carvalho, M. A. R., Farias, L. M., Moreira, E. S. A. (2003). Brazilian propolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial activity on periodontopathogens. *Phytotherapy Research*, 17(3), 285-289.

Santos, C.G., Santos, K.C., Tirelli, F.P., Blochtein, B. (2009). Caracterização sazonal de acúmulos isolados de própolis em colônias de *Plebeia emerina* (Hymenoptera, Apidae) no sul do Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 99, 200-203.

Santos, F.A.R. (2011). Identificação botânica do pólen apícola. *Magistra* 23: 5-9.

Santana, A. (2003). Produção de própolis por *Apis mellifera* L.(africanizadas) e avaliação do uso de pólen na determinação de sua origem botânica. 2003. 48f (Doctoral dissertation, Dissertação (Mestrado em Entomologia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Sawaya, A. C., Tomazela, D. M., Cunha, I. B., Bankova, V. S., Marcucci, M. C., Custodio, A. R., Eberlin, M. N. (2004). Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of propolis. *Analyst*, 129, 8, 739-744.

Sawaya, A. C. H. F., Da Silva Cunha, I. B., Marcucci, M. C., Aidar, D. S., Silva, E. C. A., Carvalho, C. A. L., Eberlin, M. N. (2007). Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of propolis of native Brazilian stingless bees. *Apidologie*, 38(1), 93-103.

Shepherd, G. J. (1996). Fitopac 1: manual do usuário. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Silva, C. R. B. D., Putarov, T., Orsi, R. D. O. (2013). Pollen spectrum of propolis samples from São Paulo State, Brazil. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 35(3), 297-300.

Silveira, F.A., Melo, G.A.R., Almeida, E.A.B. (2002). Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte, Ministério do Meio Ambiente.

Souza, H. R. D., Corrêa, A. M. D. S., Cruz-Barros, M. A. V. D., Albuquerque, P. M. C. D. (2015). Pollen spectrum of *Scaptotrigona* aff. *postica* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) propolis from Barra do Corda, MA, Brazil. *Acta Amazonica*, 45(3), 307-316.

Spring, O. (2000). Chemotaxonomy based on metabolites from glandular trichomes. *Advances in Botanical research*, 31, 153-174.

Steyermark, J.A., Borreria G.F. Meyer. (1972). The botany of the Guayana highland, part IX. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 23, 805-831.

Teixeira, E.W., Message, D., Meira, R. M. S A., Salatino, A. (2003). Indicadores da origem botânica da própolis, importância e perspectivas. Revisão bibliográfica. Boletim da Indústria Animal, 60, 83-106.

Teixeira, E.W., Negri, G., Meira, R.M.S.A., Message, D., Salatino, A. (2005). Plant origin of green propolis: bee behavior, plant anatomy and chemistry. Evidence-based complementary and alternative medicine, 2(1), 85-92.

Velásquez Ruiz, C. A. (1999). Atlas palinológico de la flora vascular paramuna de Colombia: Angiospermae.

Venturieri, G. C., Raiol, V. D. F. O., Pereira, C. A. B. (2003). Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança-PA, Brasil. Biota Neotropica, 3(2), 1-7.

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. (2012). 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, 213-236.

Viana, B. F., Silva, F. O.D, Kleinert, A. D. M. (2006). A flora apícola de uma área restrita de dunas litorâneas, Abaeté, Salvador, Revista Brasileira de Botânica, 29(1), 13-25.

Wilms, W., Imperatriz-Fonseca, V. L., Engels, W. (1996). Resource partitioning between highly eusocial bees and possible impact of the introduced Africanized honey bee on native stingless bees in the Brazilian Atlantic rainforest. Studies on Neotropical Fauna and Environment, 31, 137-151.

PERFIL PALINOLÓGICO, CONSTITUINTES FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA GEOPRÓPOLIS DE MELIPONINI NA AMAZÔNIA MARANHENSE.

Palynological profile, phenolic constituents and antioxidant activity of the Meliponas geoprópolis of Amazonia Maranhense.

Artigo que será submetido a Journal of Ethnopharmacology (ISSN 0378-8741)

Monique Hellen Martins Ribeiro , Cynthia Fernandes Pinto da Luz , Patrícia Maia Correia de Albuquerque , Ludmilla Santos S. de Mesquita³, José Wilson C. de Mesquita³& Maria Nilce de Sousa Ribeiro³

Laboratório de Estudos sobre Abelhas, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Maranhão, Brasil, Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo, Brasil
³*Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Maranhão, Brasil.*

Correspondence: Monique Hellen M. Ribeiro, Laboratório de Estudos sobre Abelhas, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Maranhão, Avenida dos Portugueses, s.n., Campus Universitário do Bacanga, 65085-580 São Luís, MA, Brasil. moniquehellen_bio@yahoo.com.br

Resumo: Objetivou-se traçar o perfil palinológico e a composição química de amostras de geoprópolis de *Melipona* para fornecer subsídios à classificação e qualidade do produto. Foram coletadas, com auxílio de espátula esterilizada e acondicionadas em saco plástico atóxico, amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (Dez/13-Fev/14-Jun/14 e Jul/14 - GP1-GP4), *M. flavolineata* (Jan/14-Mar/14-Ago/14 e Dez/14 - GP6-EGP8), *M. seminigra* (Jan/14-Jun/14-Ago/14 e Nov/14 - GP10-GP12) e *M. subnitida* (Jan/14-Mar-14-Ago/14 e Nov/14 - GP 13-GP16) em um meliponário localizado no município de Santa Luzia do Paruá, Oeste do Estado do Maranhão, Brasil. A metodologia utilizada para a identificação dos tipos polínicos foi a de Barth (1998). Para determinar o teor de polifenóis totais (TPT) foi utilizando o reagente Folin-Ciocalteau e carbonato de sódio a 20%. Para a determinação do teor de flavonoides totais (TFT) utilizou-se o método fotolorimétrico com solução metanólica de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) a 5% e para a atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos da geoprópolis, o ensaio do radical livre DPPH (Brand-Williams et al. 1995). Foi identificado um total de 65 tipos polínicos, distribuídos em 25 famílias, 55 gêneros e 9 espécies. Nas amostras de geoprópolis de *M.fasciculata* identificamos 22 tipos polínicos; na de *M. flavolineata* 28 tipos, *M. seminigra* 20 tipos e *M. subnitida* 26 tipos. Os tipos polínicos que foram comuns às quatro espécies de *Melipona* estudadas foram: *Atalea speciosa*, *Anacardium*, *Protium*, *Machaerium*, *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth., *Senna I*, *Myrcia/Psidium* e *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. Os teores de fenóis totais encontrados nas amostras analisadas variaram de 14,43 -87,71% com um conteúdo médio de 32,19 %. Os extratos apresentaram teores de flavonoides acima de 2% que permitem classificá-los, de acordo com a legislação brasileira como geoprópolis com alto teor de flavonoides. Para a atividade antioxidante ocorreu uma variação de 2,20-44,35% com um conteúdo médio de 23,14%. Houve uma variação no teor de compostos fenólicos e flavonoides entre as diferentes amostras das quatro espécies de *Melipona* analisadas. Os resultados obtidos indicam que a espécie de abelha e a época de coleta, bem como a interação entre esses fatores, influenciam a concentração de compostos bioativos na geoprópolis. Desta forma, os dados obtidos ressaltam a importância do controle de qualidade e contribuem para a caracterização da geoprópolis na região da Amazônia Maranhense.

Palavras-Chave: abelhas sem ferrão, Palinologia, flavonoides, compostos fenólicos, antioxidante.

Abstract: The objective of this study was to trace the palynological profile and chemical composition of *Melipona* geopropolis samples to provide subsidies on classification and product quality. Geopropolis samples of *Melipona fasciculata* (Dez / 13-Feb / 14-Jun / 14 and Jul / 14 - GP1-GP4), *M. flavolineata* (January 14 - (Jan / 14-Jun / 14-Aug / 14 and Nov / 14 - GP10-GP12), *M. seminigra* (Jan / 14-Aug / 14 and Dec / 14 - GP6-EGP8) and *M. subnitida* (Mar-14-Aug / 14 and Nov / 14 - GP 13-GP16) were collected, with sterile spatula and stored in non-toxic plastics bags, in a meliponary located in the municipality of Santa Luzia do Paruá, West region of Maranhão, Brazil. The pollen types were identified according to Barth (1998). To determine the total polyphenol content (TPT), Folin-Ciocalteu reagent and 20% sodium carbonate solution were used. For the determination of the total flavonoid content (TFT) the photolorimetric method was used with 5% aluminum chloride (AlCl₃) solution and the antioxidant activity determined by DPPH Assay (Brand-Williams *et al.*, 1995). A total of 65 pollen types were identified, distributed in 25 families, 55 genera and 9 species. In the samples of *M. fasciculata* we identified 22 pollen types; In *M. flavolineata* 28 types, *M. seminigra* 20 types and *M. subnitida* 26. The pollen types that were most common to the four *Melipona* species studied were: *Atalea speciosa*, *Anacardium*, *Protium*, *Machaerium*, *Mimosa caesalpinifolia* Benth., *Senna I*, *Myrcia* / *Psidium* and *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. The total phenol contents found in the analyzed samples ranged from 14.43 -87.71% with an average content of 32.19%. The extracts presented flavonoid contents above 2%, which allows them to be classified according to Brazilian legislation as a geopropolis with a high content of flavonoids. For the antioxidant activity a variation of 2.20-44.35% occurred with an average content of 23.14%. There was a content variation of phenolic compounds and flavonoids between different samples of the *Melipona* species analyzed. These results indicate that the species of bee and a season of collection, as well as an interaction between these factors, influence a concentration of bioactive compounds in the geopropolis. In this way, the data obtained highlight the importance of quality control and contribution to characterization of the geopropolis in the Amazon region of Maranhao.

Key words: stingless bees, palynology, flavonoids, phenolic compounds, antioxidant.

INTRODUÇÃO:

As abelhas sem ferrão são generalistas, coletando néctar e pólen de uma vasta variedade de plantas (Biesmeijer et al. 2005; Nogueira-Neto 1997; Silveira et al. 2002; Ramalho et al. 1990; Rêgo et al. 2008) e são consideradas importantes polinizadores de plantas nativas tropicais e subtropicais (Heard, 1999). A região amazônica abriga uma grande variedade de ecossistemas que proporcionam uma diversidade de nichos para essas abelhas, nos quais as plantas nativas e introduzidas oferecem diversos recursos como pólen, néctar, além de substratos para nidificação e materiais como, resinas e fibras para a construção de seus ninhos (Venturieri et al., 2012). A Amazônia é detentora da maior diversidade de meliponíneos do Brasil, em especial os do gênero *Melipona* (Silveira et al., 2002), onde se encontram as espécies de maior porte e de vasto manejo.

Os meliponíneos podem produzir própolis ou geoprópolis, e a quantidade destes produtos varia de acordo com a espécie de abelha (Kerr, 1987; Nogueira-Neto, 1997). A própolis é elaborada pelas abelhas quando estas recolhem resinas de caules ou ramos de árvores danificadas (Sawaya et al., 2007). E a geoprópolis apresenta em sua composição, além do material vegetal, secreção de glândulas, cera e pólen, o acréscimo de terra, barro, argila ou areia, e não contém tecido de plantas nem tricomas (Kerr, 1987; Nogueira-Neto, 1997; Freitas et al., 2008).

A utilização da geoprópolis é ampla em colônias de meliponíneos, servindo para a construção de estruturas externas (tubos de entrada) e internas (favos de cria, lamelas de invólucro e potes de alimento) das colônias (Michener, 1974; Nogueira-Neto, 1997; Michener, 2000; Venturieri et al., 2003; Santos et al., 2009). A geoprópolis se destaca dentre os produtos dos meliponídeos e tem suscitado crescente interesse dos pesquisadores, que vem desenvolvendo estudos voltados para o conhecimento de sua composição química e atividades farmacológicas (Dutra et al., 2014; Cinegaglia et al., 2013; Fianco et al., 2013; Freitas et al., 2008; Abreu, 2011; Lima, 2015). Podemos destacar a contribuição de Bankova et al. (1998) que identificaram mais de cinquenta compostos produzida por três espécies de meliponíneos. Manrique & Santana (2008) estudaram os flavonoides, assim como avaliaram a atividade antimicrobiana e antioxidante da geoprópolis de abelhas sem ferrão da Venezuela e Brasil. Dutra et al. (2008) comprovaram que amostras de geoprópolis da *Melipona fasciculata* oriundas da Baixada Maranhense possuem altos teores de flavonoides e sugeriram que as variações qualitativa e quantitativa desses flavonoides e de outros constituintes químicos nas várias amostras analisadas são afetadas pela flora visitada pelas abelhas, região geográfica e fatores ambientais. Libério et al. (2011) mostraram que a geoprópolis de *M. fasciculata* exerce ação

antimicrobiana contra patógenos orais, e aumenta a produção de citocinas anti-inflamatórias, sem demonstrar efeitos tóxicos.

Devido a ampla diversidade de substâncias presentes na geoprópolis a identificação da substância responsável pela atividade terapêutica representa um desafio. No entanto, alguns autores afirmam que a eficácia estaria justamente na composição química heterogênea (Matsuno et al., 1995). Dessa forma, pesquisas sobre a constituição química da geoprópolis é imprescindível para identificar as moléculas responsáveis pelas propriedades farmacológicas já avaliadas. Contribuindo também com a ampliação do respaldo da garantia da qualidade desse produto oferecido aos consumidores (Paula-Eduardo, 2014). Poucos são os estudos sobre a composição química da geoprópolis de abelhas sem ferrão na Região Amazônica. Destaca-se o estudo de Silva (2012) sobre a composição química e atividade biológica da geoprópolis produzida por *Melipona interrupta* Latreille 1811 e *Melipona seminigra* na região Amazônica. E Lima (2015) que determinou o teor de compostos fenólicos em geoprópolis de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier 1836, *M. marginata* Lepeletier 1836 e *Tetragonisca angustula* Latreille 1811.

Levando-se em consideração o potencial da atividade meliponícula, e que as pesquisas nessa área ainda são incipientes, esse trabalho teve como objetivo contribuir com parâmetros para classificação e qualidade de produtos de abelhas sem ferrão, através da determinação da composição química de amostras de geoprópolis de meliponíneos coletadas na região amazônica e avaliação da sua atividade antioxidante.

MATERIAS E MÉTODOS:

Obtenção das amostras:

As coletas ocorreram de dezembro/2013 a dezembro/2014 em um meliponário localizado no município de Santa Luzia do Paruá, Maranhão, Brasil (02°32'36,2'' S; 45°46'26,9'' W) (Figura 1). Foram selecionadas colônias que apresentaram população com número suficiente de operárias e bom aspecto sanitário. As amostras de geoprópolis de *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854 [dezembro/2013, fevereiro/2014, junho/2014 e julho/2014 (GP1-GP4)], *Melipona flavolineata* Friese 1900 [janeiro/2014, março/2014, agosto/2014 e dezembro/2014 (GP5-GP8)], *Melipona (Michmelia) seminigra* Friese 1903 [janeiro/2014, junho/2014, agosto/2014 e novembro/2014 (GP9-GP12)] e *Melipona subnitida* Ducke 1910 [janeiro/2014, março/2014, agosto/2014 e novembro/14 (GP13-GP16)] foram coletadas com auxílio de espátula esterilizada e acondicionadas em saco plástico atóxico.

Caracterização da área de coleta:

O município de Santa Luzia do Paruá está situado a oeste do estado do Maranhão, na microrregião do Pindaré. A região do Alto Turi maranhense está localizada predominantemente no ecossistema floresta, com alguma presença também do cerrado. Todo o seu perímetro encontra-se na chamada Amazônia maranhense, região de floresta influenciada pelo rio Turiaçu, que nasce na própria região, na Serra da desordem (MTE, 2012). Toda a região noroeste do Maranhão é recoberta pela floresta que corresponde à região de Tocantins e do Gurupi, descrita por Hueck (1972) e se prolonga do rio Gurupi ao Mearim, passando pelo Pindaré (Fig.1). Destacam-se na paisagem espécies vegetais como *Piranhea trifoliata* Baill. (piranheira), *Cenostigma tocanthinum* Ducke (caneleiro), *Hymenaea courbaril* L. (jatobá), *Spondias lutea* L. (cajazinho), *Copaifera reticulata* Ducke (copaíba), *Hymenaea parvifolia* Huber (jatobá-curuba), *Protium tenuifolium* Engl. (amesclão), *Tabebuia impetiginosa* Mart.ex DC. Standl. (ipê-roxo), *Astronium gracile* Engl. (muiracatiara), *Eschweilera amazonica* R. Knuth (juruparana), *Apuleia leiocarpa* (vog.) macbr (amarelão), *Lecythis usitata* R. Knuth (jarana), *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Decne & Planch (morototó), entre outras que respondem pela grande diversidade da região (Muniz, 2011).

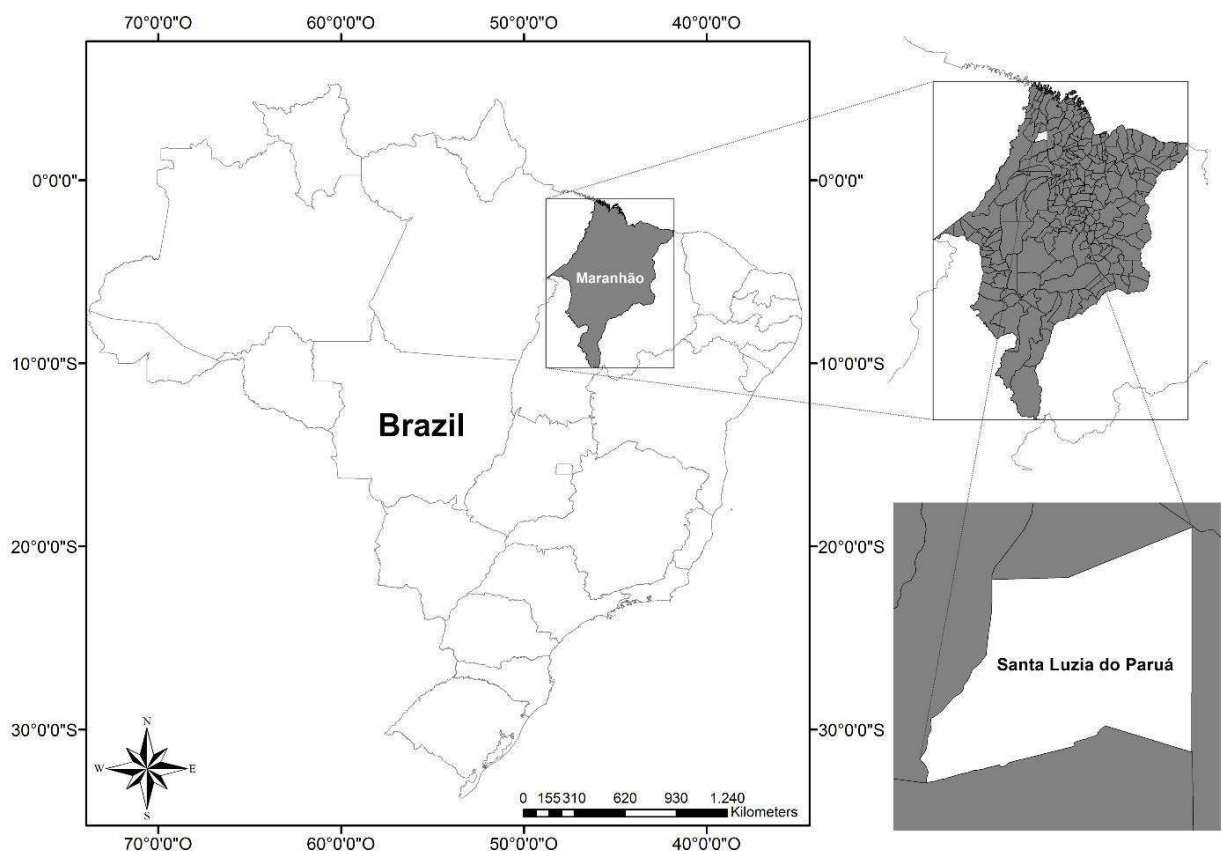


Figura 1: Localização do Meliponário de coleta das amostras de geoprópolis de Meliponíneos no município de Santa Luzia do Paruá, do estado do Maranhão, Brasil.

Análise polínica da geoprópolis:

A metodologia utilizada foi a de Barth (1998), iniciando-se pela extração de 0,5 g de cada amostra de geoprópolis, dissolvendo-se com auxílio de um bastão de vidro em 15 ml de álcool absoluto durante pelo menos 24 horas. O sedimento depositado no fundo do tubo após a centrifugação foi fervido durante 2 minutos em KOH (hidróxido de potássio) a 10% em banho-maria. Posteriormente, centrifugado e descartado o sobrenadante. Em seguida foi feita a lavagem em água destilada e filtragem por tela de 0,3 mm para eliminação de fragmentos maiores, de acordo com Barros et al. (2013). Nesta etapa, o líquido filtrado foi colocado em agitador ultrassônico por 3 minutos utilizando-se tubos de plástico especiais providos de anel vedante e tela de nylon de malha de 5 μ m para eliminação de outros fragmentos. O sedimento restante de dentro do tubo foi transferido para um tubo de centrifuga, lavando-se com água destilada. Em seguida foi feita a centrifugação e decantação. Posteriormente adicionou-se ácido acético glacial ao sedimento depositado no fundo do tubo de centrifuga, permanecendo durante uma noite em repouso. Antes da aplicação da mistura de acetólise, prepararam-se lâminas de microscopia do sedimento retido na tela de aço de filtragem 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 podem auxiliar na caracterização geográfica e botânica das amostras (Barth & Luz 2003). Em seguida o sedimento que permaneceu em ácido acético foi submetido ao método de acetólise de Erdtman (1960), e posteriormente de cada amostra confeccionaram-se lâminas permanentes em triplicatas com gelatina glicerizada com parafina (Kisser, 1935; Muller, 1947).

A identificação e registro fotográfico dos grãos de pólen foram feitos através de fotomicroscópio com câmera digital e análise de imagem por Software específico para captura de imagem. A avaliação palinológica foi baseada na interpretação da contagem no mínimo de 300 grãos de pólen por amostra, observados em microscopia óptica de 400 a 1000X de aumento. A determinação e identificação botânica dos tipos polínicos foram feitas de acordo com as instruções de Santos (2011), a nível de gênero, sempre que possível, e a denominação “tipo” foi empregada. Os grãos de pólen foram identificados através da comparação com a palinoteca de referência da área do Laboratório de Estudos Sobre Abelhas (LEA), onde depositamos todas as lâminas preparadas neste estudo, e utilizamos catálogos de pólen para ajudar na identificação.

Preparo dos extratos hidroalcóolicos de geoprópolis:

As amostras de geoprópolis *in natura* foram trituradas separadamente em turbolizador e submetidas a maceração exaustiva com etanol 70% (v/v) por 72 horas, com hidromódulo de 1:2 (p/v) (Dutra et al., 2014). As soluções extrativas, separadamente, foram filtradas e concentradas em evaporador rotativo, obtendo-se os extratos hidroalcóolicos de geoprópolis, depois foram acondicionados em frascos âmbar e mantidos sob refrigeração para as posteriores análises. Os extratos obtidos foram codificados utilizando-se inicialmente a letra “e” maiúscula para designar extrato, seguido pelo código usado na identificação das amostras de geoprópolis. E assim ficaram para as amostras de *M. fasciculata* EGP1 (dez/13), EGP2 (fev/14), EGP3(jun/14) e EGP4 (jul/14). Para *M. flavolineata*: EGP5 (jan/14), EGP6 (fev/14), EGP7(jun/14) e EGP8 (jul/14). *M. seminigra* os extratos EGP9 (jan/14), EGP10 (jun/14), EGP11 (agos/14) e EGP12 (nov/14) e nas de *M. subnitida* EGP13 (jan/14), EGP14 (mar/14), EGP15 (agos/14) e EGP16 (nov/14).

Determinação do teor de polifenóis totais (TPT):

Foi determinado utilizando-se o 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, PerkinElmer) (Dutra et al., 2014). O teor foi calculado a partir de uma curva de calibração de ácido gálico (Sigma) (1-30,0 µg/ml) e expresso como mg de equivalente de ácido gálico por g de extrato (mg EAG/g). As análises foram realizadas em triplicata.

Determinação do teor de flavonoides totais (TFT):

Foi determinado utilizando-se método fotolorimétrico com solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl₃) 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, PerkinElmer) (Mesquita et al., 2016). O teor foi calculado a partir da curva de calibração construída com solução padrão de quercetina (Merck) (1-30,0 µg/mL) e expressa como mg de equivalente de quercetina por g de extrato (mg EQ/g). As análises foram realizadas em triplicata.

Determinação da atividade antioxidante in vitro:

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

A atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis foi avaliada pelo ensaio do radical livre DPPH• segundo Brand-Williams et al. (1995) com modificações. As

amostras foram diluídas em metanol, em diferentes concentrações (5,0-50,0 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. 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, e A_{branco} é a absorbância do branco.

A porcentagem da atividade antioxidante foi relacionada com a concentração da amostra para a obtenção da concentração eficiente (CE50), 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.

Análise estatística:

Com esses resultados foi feita Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas (Newman-Keuls) utilizando o software Graph Pad Prism, versão 5.0, tomando-se o valor de $p \leq 0,05$ como nível máximo de significância estatística (Sokal & Rohlf, 1996).

Para examinar a influência dos dados quantitativos e qualitativos na ordenação dos tipos polínicos nas amostras utilizou-se a análise de componentes principais (ACP). Para a transformação da contagem absoluta pelo logaritmo natural $[\log(x+1)]$ foi utilizado o programa FITOPAC (Shepherd, 1996) e posteriormente se realizou a ordenação através de matriz de covariância utilizando-se o programa PC-ORD 4.0 (McCune & Mefford 1999). A variabilidade entre as amostras foi expressa utilizando-se os dois primeiros eixos da ACP.

RESULTADOS:

Análise Polínica:

Foi identificado um total de 65 tipos polínicos, distribuídos em 25 Famílias, 55 gêneros e 9 espécies. Nas amostras de geoprópolis de *M. fasciculata* identificamos 22 tipos; 28 tipos na de *M. flavolineata*, *M. subnitida* 26 e *M. seminigra* 20 tipos polínicos (Tabela 2). Os tipos polínicos que foram comuns e com uma frequência significativa às quatro espécies de *Melipona* estudadas foram: *Attalea speciosa* Mart. ex. Spreng (Fig. 2.2), *Anacardium* (Fig. 2.1), *Protium* (Fig. 2.5), *Machaerium* (Fig. 2.8), *Mimosa caesalpinifolia* Benth., *Senna* I, *Myrcia/Psidium* (Fig. 2.13) e *Borreria verticillata* (L.) G. Mey (Fig. 2.14).

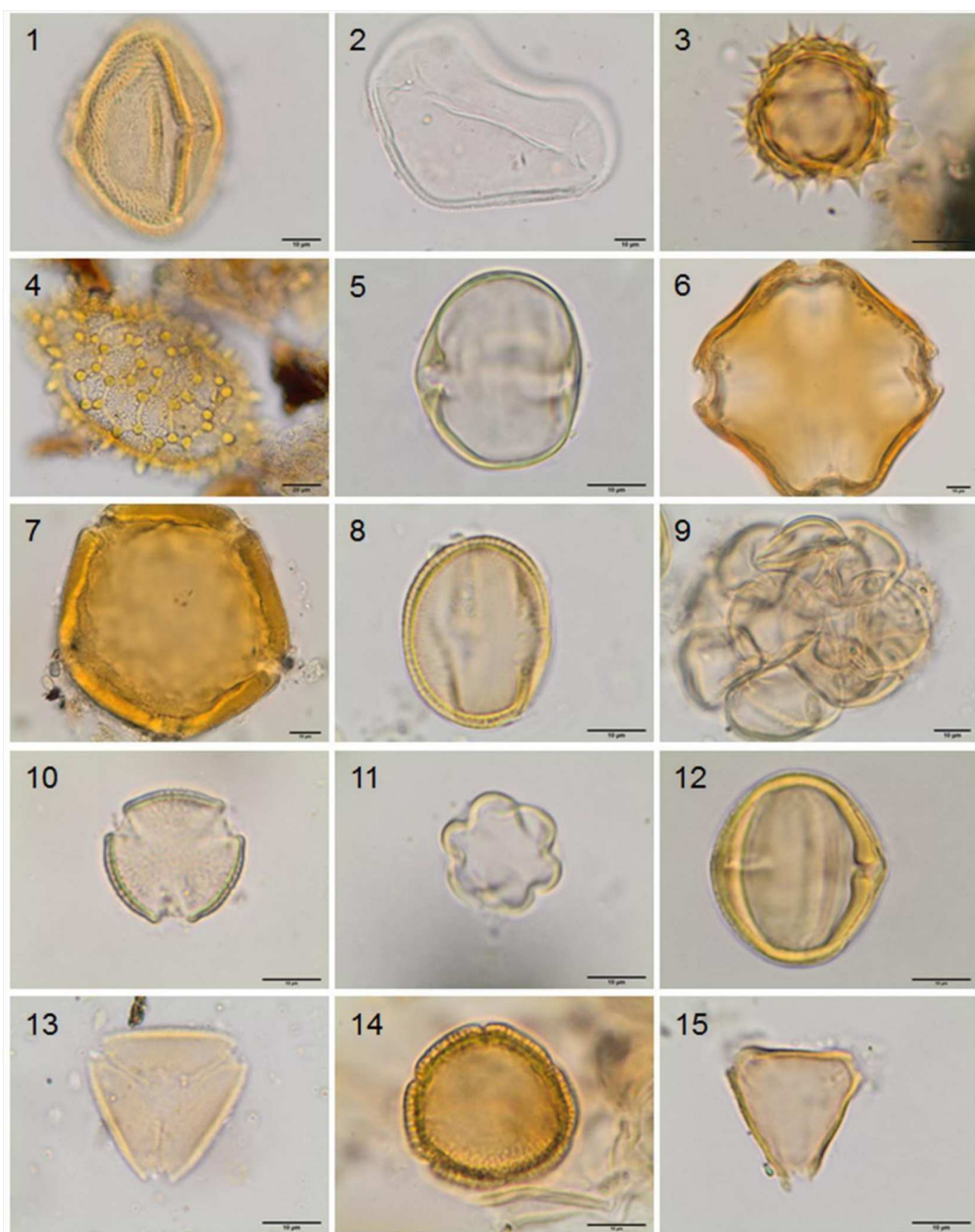


Figura 2: Fotomicrografias de grãos de pólen observados nas amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida* na Amazônia Maranhense, Brasil: **1-** *Anacardium*. **2-** *Attalea speciosa*. **3-** *Baccharis*. **4-** *Adenocalymna inundatum*. **5-** *Protium*. **6-** *Platonia insignis*. **7-** *Symphonia globulifera*. **8-** *Machaerium*. **9-** *Stryphnodendron*. **10-** *Vismia*. **11-** *Miconia/Tibouchina*. **12-** *Mouriri*. **13-** *Myrcia/Psidium*. **14-** *Borreria verticillata*. **15-** *Serjania*. Escala = 10µm.

Houveram tipos polínicos exclusivos para cada espécie de abelha analisada, ou seja, foram identificados apenas como recurso nessa espécie nas amostras analisadas. Para *M. fasciculata* identificamos como exclusivos os tipos, *Acacia*, *Ludwigia*, *Miconia/Tibouchina*, *Opuntia*, *Psicotrya*, *Schrankia* I, *Stryphnodendron* e *Trichilia*. Para *M. flavolineata* foram os tipos *Adenocalymna* sp., *Alchornea*, *Borreria latifolia* (Aubl.) K.Schum., *Dolichos*, *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Inga*, *Ipomoea*, *Menispermaceae*, *Sida*, *Schrankia* II e *Talisia*. Em *M. seminigra* os tipos *Adenocalymna inundatum* DC., *Combretum/Melastomataceae*, *Mangifera*, *Paullinia*, *Platonia insignis* Mart. e *Serjania*. Já em *M. subnitida* os tipos *Doliocarpus*, *Merremia*, *Mimosa invisa* Mart. ex Colla., *Onagraceae* e *Piptadenia* (Tabela 1).

A família que teve maior quantidade de tipos polínicos foi Fabaceae (18 tipos), seguido de Euphorbiaceae e Rubiaceae (5 tipos), Anacardiaceae e Clusiaceae (4 tipos). As outras famílias variaram de 1 a 3 tipos polínicos identificados. As amostras com maior número de tipos palinológicos identificados foi GP7 (*M. flavolineata*) com 33 tipos, seguido de GP14, GP16 e GP15 (*M. subnitida*) com 22, 20 e 18 tipos respectivamente e a GP6 (*M. flavolineata*) com 16 tipos. A maior frequência de ocorrência de um tipo polínico numa amostra foi de 44,03% do tipo *Hyptis* na amostra GP7 (*M. flavolineata*), seguido de *Symphonia globulifera* na amostra GP15 (*M. subnitida*) com 41,45%, tipo *M. pudica* na amostra GP13 (*M. subnitida*) com 37,86%, tipo *Protium* com 36,77% na amostra GP6 (*M. flavolineata*) e o tipo *B. verticillata* com 34,83% na amostra GP1 (*M. fasciculata*).

A variabilidade polínica entre as amostras de geoprópolis das quatro espécies de abelhas resumiu 66,22% nos seus dois primeiros eixos na análise de componentes principais (ACP) (Fig. 3). O primeiro eixo resumiu 42,09% em função dos valores altamente relacionados principalmente com *Declieuxia*, *Hyptis*, *Protium*, *Myrcia/Psidium*, *Symphonia globulifera* L. e *Vernonia*, que foram os principais componentes para a ordenação das amostras, tanto por apresentarem elevada contagem quanto por estarem presentes na maioria delas. Outros tipos polínicos que foram mais representativos ora em uma, ora em outra amostra, foram *Anacardium*, *Attalea speciosa*, *Borreria verticillata*, *Clusia*, *Machaerium* e *Mouriri*. Já os tipos polínicos ordenados no lado esquerdo do primeiro eixo, apresentaram os menores valores nas

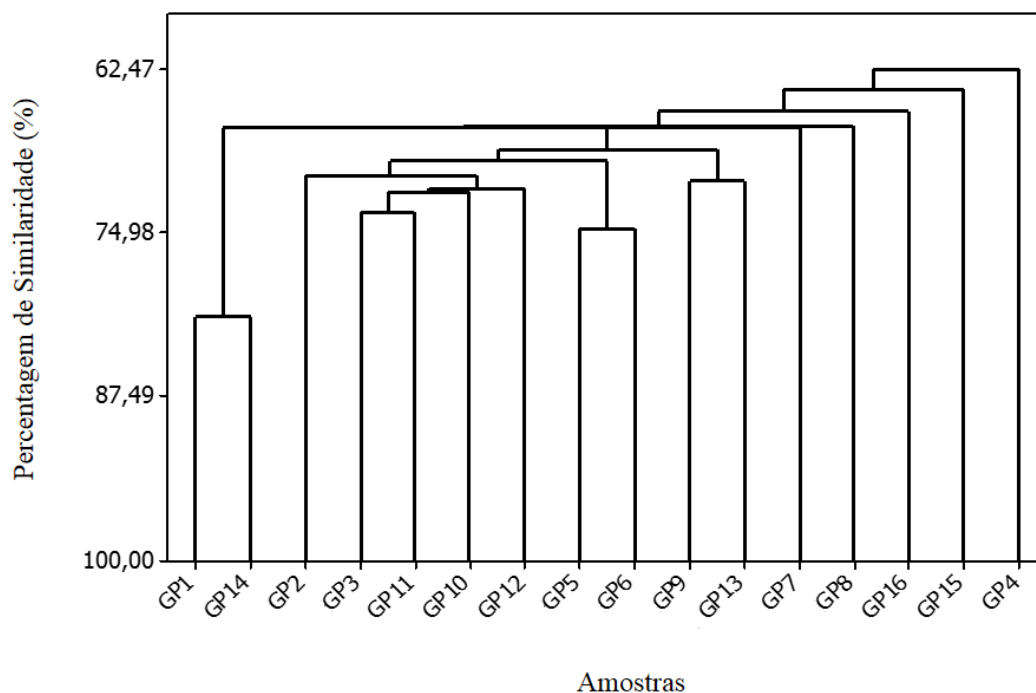


Figura 4: Dendrograma de similaridade das amostras de *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida* na Amazônia Maranhense, Brasil.

Constituição Química:

Os teores de fenóis totais encontrados nas amostras analisadas variaram de 14,43-87,71% com um conteúdo médio de 32,19 % (Tabela 1). O EGP2 foi a amostra que obteve o maior teor de fenóis, seguido da EGP1, EGP15 e EGP3. Os EGP superaram o valor mínimo de 5% de fenóis totais, estabelecido na legislação brasileira para qualidade de própolis de *Apis mellifera*.

Os extratos apresentaram teores de flavonoides acima de 2% que permitem classificá-los, de acordo com a legislação brasileira como geoprópolis com alto teor de flavonoides. Os teores de flavonoides variaram de 10,39-77,08% com um conteúdo médio de 27,39%, sendo que EGP7 teve o menor teor de flavonoides, já o extrato EGP2 obteve o maior teor, seguido de EGP15, EGP1 e EGP3 (Tabela 1).

Para a atividade antioxidante ocorreu uma variação de 2,20-44,35% com um conteúdo médio de 23,14%. Sendo o extrato EGP2 que apresentou a maior atividade antioxidante, seguido dos extratos hidroalcoólicos EGP13, EGP3, EGP11 e EGP12 respectivamente (Tabela 1).

Não houve diferença significativa para o teste de Fenóis totais (%) nos extratos da geoprópolis das espécies de *Melipona* estudadas. Os resultados estatísticos para os flavonoides apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os extratos EGP4, EGP12, EGP14 e EGP16. Na atividade antioxidante só houve diferença significativa na amostra EGP3.

Tabela 1: Teor de fenóis totais (%) (m/m), Teor de flavonoides totais (%) (m/m) e Atividade antioxidante (%) com seus respectivos desvios padrão dos dezesseis extratos hidroalcoólicos da geoprópolis de *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida*.

Espécies de abelhas	Análises			
	Teor			
	Amostras	Fenóis totais (mg EQ/g) (m/m)	Flavonoides totais (mg EAG/g) (m/m)	Atividade antioxidante (%)
<i>M. fasciculata</i>	EGP1	56,38 ± 0,24 ^a	41,67 ± 0,64 ^a	14,22 ± 0,24 ^a
	EGP2	87,71 ± 0,20 ^b	77,08 ± 0,64 ^b	2,20 ± 0,18 ^b
	EGP3	47,36 ± 0,43 ^c	39,42 ± 0,35 ^c	11,43 ± 0,18 ^{c, i}
	EGP4	32,76 ± 0,12 ^d	24,46 ± 0,46 ^{d, e}	14,90 ± 0,62 ^a
<i>M. flavolineata</i>	EGP5	31,48 ± 0,25 ^e	25,83 ± 0,80 ^e	26,62 ± 0,75 ^d
	EGP6	19,64 ± 0,11 ^f	16,68 ± 0,50 ^f	38,45 ± 0,49 ^e
	EGP7	14,43 ± 0,26 ^g	10,39 ± 0,45 ^g	44,35 ± 0,29 ^f
	EGP8	16,41 ± 0,24 ^h	15,05 ± 0,51 ^h	39,63 ± 0,01 ^e
<i>M. seminigra</i>	EGP9	16,38 ± 0,49 ^h	12,53 ± 0,49 ⁱ	32,45 ± 0,88 ^g
	EGP10	22,38 ± 0,31 ⁱ	17,58 ± 0,45 ^f	30,83 ± 0,30 ^g
	EGP11	21,50 ± 0,31 ^j	19,35 ± 0,24 ^j	12,28 ± 0,80 ^c
	EGP12	20,68 ± 0,15 ^j	18,35 ± 0,39 ^{j, k}	17,49 ± 0,68 ^h
<i>M. subnitida</i>	EGP13	29,71 ± 0,25 ^k	26,53 ± 0,37 ^e	9,885 ± 0,85 ⁱ
	EGP14	26,43 ± 0,33 ^l	25,64 ± 0,39 ^{d, e}	26,98 ± 0,87 ^d
	EGP15	53,54 ± 0,16 ^m	50,48 ± 0,35 ^l	23,66 ± 0,15 ^j
	EGP16	18,37 ± 0,35 ⁿ	17,53 ± 0,40 ^{f, k}	24,92 ± 0,01 ^j

Letras diferentes na mesma coluna significam diferença estatística ($p < 0,05$).

Tabela 2: Tipos Polínicos identificados nas amostras de geoprópolis de *M. fasciculata* EGP1 (Dez/13), EGP2 (Fev/14), EGP3(Jun/14) e EGP4 (Jul/14); *M. flavolineata* EGP5 (Jan/14), EGP6 (Fev/14), EGP7(Jun/14) e EGP8 (Jul/14); *M. seminigra* EGP9 (Jan/14), EGP10 (Jun/14), EGP11 (Agos/14) e EGP12 (Nov/14) e *M. subnitida* EGP13 (Jan/14), EGP14 (Mar/14), EGP15 (Agos/14) e EGP16 (Nov/14).

Tipos polínicos	<i>M. fasciculata</i>				<i>M. flavolineata</i>				<i>M. seminigra</i>				<i>M. subnitida</i>			
	GP1	GP2	GP3	GP4	GP5	GP6	GP7	GP8	GP9	GP10	GP11	GP12	GP13	GP14	GP15	GP16
ARECACEAE																
<i>Attalea speciosa</i> Mart.	0,89	2,58			7,02	2,58	1,1		0,61	2,37	5,03	1,71	0,48	2	2,18	1,71
ANACARDIACEAE																
<i>Anacardium</i>		17,82			14,90	18,06	3,35		9,20	2,88	10,06			2	0,42	
<i>Manguifera</i>									0,2					0,75		
<i>Tapirira</i>						4,80			0,27					1,14		
<i>Spondias</i>						0,18	0,62							0,22		
ASTERACEAE							1,92									
<i>Baccharis</i>																
<i>Erechtites</i>		1,14	2						0,30							
<i>Vernonia</i>	23,31		2,70	2		1,95	0,41							0,57		
BIGNONIACEAE						1,30				1,97				0,22		
<i>Adenocalymna</i> sp.							0,28									
<i>Adenocalymma inundatum</i> Mart. ex DC.									0,54							
<i>Tabebuia</i>														3,65		
BURSERACEAE																
<i>Protium</i>		36,30	31,30	13,48	42,12	36,77	18,72	8,46	9,20	32,87	20,23	33,60	2,42	15,94	2,66	0,39
CACTACEAE																
<i>Opuntia</i>		3,18														
CLUSIACEAE																
<i>Clusia</i>			0,44				1,68	3,69								
<i>Clusia grandiflora</i> Splitg.							2,93			1,58						0,56
<i>Platonia insignis</i> Mart.												0,95				
<i>Symphonia globulifera</i> L.	1,18						2,72							32,55	41,45	46,80
Combretum/MELASTOMATACEAE													17,71	1,32		
CONVOLVULACEAE																
<i>Ipomoea</i>						1,30	6,28									
<i>Merremia</i>																0,85
DILLENIACEAE																

Continuação													
<i>Doliocarpus</i>													4,60
EUPHORBIACEAE													
<i>Acalypha</i>	0,75				0,63								
<i>Alchornea</i>					1,29								
<i>Chamaesyce</i>						1,22					1,21		
<i>Croton</i>	3,26			1,93									
<i>Omphalea</i>						4,75	6,11			1,86		25,45	15,16
FABACEAE													
<i>Acacia</i>	0,20												
<i>Anadenanthera</i>		3,37				0,52					0,44		0,27
<i>Centrosema</i>						1,52							
<i>Chamaecrista</i>	7,27	1,35		1,55		1,14				1,69			3,42
<i>Desmodium</i>											0,60		
<i>Dolichos</i>				0,35									
<i>Inga</i>							0,20					0,48	
<i>Machaerium</i>		8,28	0,41	7,20	0,11	3,63		3,98	1,58		0,63	37,86	2
<i>Mimosa pudica</i> L.					4,51	0,30		0,47				1,45	
<i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth.		1,27			0,64	1,95		4,90		2	1,82		
<i>Mimosa</i> sp.			0,68										
<i>Mimosa invisa</i> Mart. ex Colla.													
<i>Piptadenia</i>													
<i>Pterocarpus</i>			0,67			7,54	0,40					0,22	
<i>Schrankia</i> I	2,37											0,66	
<i>Schrankia</i> II						0,83							
<i>Senna</i> I		6,40	21,40	23,60	1,93	4,20	4,07			3	0,63	1,32	2,90
<i>Stryphnodendron</i>		1,91											
HYPERICACEAE													
<i>Vismia</i>											0,63		0,96
LACISTEMACEAE													1,71
<i>Lacistema</i>						11,11			3				0,72
LAMIACEAE													
<i>Hyptis</i>	15,36		15	14,39		1,04	44,03	0,78	0,40	33	23,3		
MALPIGHIACEAE													
<i>Byrsonima</i>	0,23								1,09				1,93
MALVACEAE													
<i>Sida</i>									0,61				
MELASTOMATACEAE													
<i>Miconia/Tibouchina</i>			0,30										
<i>Mouriri</i>						3,21		1,58	0,67			4,65	3,87
MELIACEAE			0,27										3,13
<i>Trichilia</i>			0,27										

Continuação																	
MENISPERMACEAE							1,88			0,4			0,45				
MYRTACEAE																	
Eucalyptus							0,83			0,44			0,42				
Eugenia							0,81			0,52			0,67				
Myrcia/Psidium		8,61		1,12	1,34	8,21	6,28	7,34	18,5	5		19,9	3,10	4,85	3,4		
MYRSINACEAE																	
Ardisia													5,32				
ONAGRACEAE																	
Ludwigia							1,18										
RUBIACEAE							8,67		5,50		0,96						
Borreria latifolia (Aubl.) K.Schum.									0,40								
Borreria verticillata (L.) G. Mey.		29,76	14,65	12,16	34,83	2,56		5,31	6,52	4,74	5	0,63	0,48	4,36	4,27		
Declieuxia				8,78													
Psicotrya			1,28														
Guetarda									2,14								
SOLANACEAE																	
Solanum				0,45		4		1,93		0,27		1,22					
SAPINDACEAE																	
Paullinia										0,39							
Serjania										0,40							
Talisia							0,27										
Total:		13	11	14	11	9	16	33	13	14	15	9	10	11	22	18	20

DISCUSSÃO:

Identificamos uma maior riqueza de tipos polínicos nas amostras de *M. flavolineata* (28 tipos) seguido de *M. subnitida* (26 tipos), *M. fasciculata* (22 tipos polínicos) e *M. seminigra* (20 tipos). Os Meliponini são considerados espécies generalistas, onde os indivíduos possuem habilidade física, fisiológica e comportamental para visitar vários tipos de flores, sendo numericamente dominantes entre os insetos visitantes florais (Ramalho, 2004). Comumente, estes apresentam colônias populosas e perenes, e por isso, normalmente exploram um amplo espectro floral ao longo do ano, razão pela qual são consideradas generalistas (Michener, 1979). Segundo Ramalho et al. (2004), esse hábito exerce bastante influência no sucesso reprodutivo das árvores, desempenhando um papel relevante na regeneração natural das florestas.

As amostras que identificamos maior quantidade de tipos polínicos foram GP7, GP14, GP15 e GP16. O que pode estar relacionado com a floração de determinadas espécies vegetais na área, além das preferências florais de cada colônia. Segundo Tepedino & Stanton (1981) é muito difícil definir a fonte de recurso para as abelhas, porque estas diferem em quantidade e qualidade nos habitats. Por essa razão, o estudo do pólen é de fundamental importância para o conhecimento da flora apícola de uma região (Absy et al., 1996).

A família Fabaceae obteve uma grande representatividade na riqueza de tipos polínicos nas amostras analisadas. Esta família é considerada importante por muitos autores como uma das maiores famílias vegetais e a sua representatividade deve-se a diversidade de hábitos, preferências ecológicas e mecanismos de manutenção, defesa e reprodução, por ela apresentado (Viana et al., 2006). Para Ramalho et al. (1990) as famílias que possuem grande número de espécies em uma área também tendem a ser suas principais fontes de néctar e/ou pólen e, que por isso, podem “contaminar” com pólen a geoprópolis.

A Família Rubiaceae obteve uma boa representatividade nos tipos polínicos identificados, como os tipos *Borreria latifolia* e *B. verticillata*. Na própolis de *Scaptotrigona aff. postica* no Maranhão, destacou-se o tipo *Borreria verticillata* (Souza et al., 2015) cujo gênero possui em torno de 100 espécies (Cabral, 1991) distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da América, África, Ásia e Austrália e, sua maior diversidade está no Brasil (Steyermark, 1972). Gonçalves et al. (1996) em estudos sobre recursos florais utilizados por abelhas sociais observaram que *B. verticillata* foi a espécie vegetal mais visitada pelas abelhas no município de Alcântara no estado do Maranhão. É uma planta considerada uma erva daninha que invade áreas de cultivo agrícola ou os quintais e jardins de residências. Suas flores são comumente visitadas por diversas espécies de abelhas nativas (Souza et al., 2015) e esta planta pode representar uma importância trófica para as abelhas sem ferrão na área estudada.

A maior frequência de ocorrência de determinados tipos polínicos como *Hyptis* (Lamiaceae) nos demonstra a importância desta espécie vegetal para a geoprópolis das abelhas sem ferrão. Segundo Park et al. (2002) uma das fontes de resina para a própolis nordestina são as folhas jovens de *H. divaricata* (Lamiaceae). Destacou-se também com alta frequência *Symphonia globulifera* Linn. f (Clusiaceae), que é uma árvore de ocorrência principalmente na Mata de várzea amazônica e, pode ser encontrada na Amazônia, Maranhão, Rio de Janeiro, nas Guianas, América Central (México), África e Madagascar. O caule/tronco é comercializado e usado na construção civil (Jardim & Zoghbi, 2008), a resina é usada misturada com carvão de imbaúba (*Cecropia*) para preparar um betume preto que ajuda a encerar os fios de vela (Pesce, 2009) e, calafetar embarcações (Ribeiro et al. 1999).

O tipo *M. pudica* destacou-se na frequência, esse tipo polínico também foi um dos mais frequentes na própolis do Agreste da Bahia (Matos et al., 2004), na própolis vermelha de *Apis mellifera* provenientes do litoral nordestino (Barth & Luz, 2009; Luz et al., 2009) e na própolis marrom e preta de *A. mellifera* do sudeste brasileiro (Barth et al., 1999; Freitas et al., 2010), assim como na própolis de outras regiões do Brasil (D'Albore, 1979). No entanto, nenhum estudo indica que seja planta produtoras de resina para as abelhas. *M. pudica* é planta polinífera que ocorre por todo o Brasil cujo pólen é coletado pelas abelhas em cargas de pólen (Dórea et al., 2010), aparecendo também no mel (Barth, 2004; Martins et al., 2011). O Tipo *Protium* (Burseraceae) obteve uma frequência importante nas amostras analisadas e para as quatro *Melipona*, conhecida popularmente como “almécega e/ou alméscar”. Pertence a um gênero de planta de ampla distribuição no Brasil, nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul com domínios Fitogeográficos na Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Flora do Brasil). Denominada de “breu-branco” porque exsuda uma resina oleosa e amorfa, com aroma característico (Oliveira et al., 2005).

Os tipos polínicos comuns aos Meliponíneos analisados foram responsáveis pelo agrupamento das amostras e os principais componentes para a ordenação, tanto por apresentarem elevada contagem quanto por estarem presentes na maioria delas. Foram responsáveis pela caracterização fitogeográficas das amostras das *Melipona* estudadas e uma interpretação da flora de procedência local, tendo em vista que houve uma grande similaridade entre os grupos formados das amostras. As abelhas podem preferir determinada fonte em detrimento de outra em vista da facilidade de coleta, quantidade e qualidade dos recursos tróficos fornecidos e interações com competidores (Cortopassi-Laurino & Ramalho, 1988). A generalidade que ocorre nas abelhas pode está mais relacionada com o curto período de floração da maioria das plantas, do que com outros fatores externos, como a competição pelo mesmo alimento com outros visitantes (Marques Souza et al. 1993).

Os resultados polínicos aqui apresentados podem dar indicação das preferências tróficas de cada espécie de abelha já que apresentaram diferenças em um mesmo local de coleta, mas que devem ser melhor analisadas em outras pesquisas direcionadas para estudos de polinização. Esses resultados estão relacionados aos tipos polínicos exclusivos que ocorreram na geoprópolis de cada espécie de abelha. Os tipos polínicos tidos como exclusivos ajudaram a caracterizar as amostras de cada espécie de abelha, tanto na ACP quanto na similaridade das amostras, apesar de terem apresentado menores valores de contagens. Podemos considerar como uma preferência floral de cada uma das espécies de *Melipona*. Esses tipos podem ser correlacionados com a atividade de voo específico de cada abelha, a oferta de alimento para as abelhas só passa a ser importante depois que as abelhas encontram condições favoráveis para o voo, de modo que a espécie que podem atuar em faixas mais amplas de temperatura e umidade relativa, entre outros fatores, eventualmente tem vantagens sobre as demais (Kleinert et al., 2009).

A influência fitogeográfica sobre as características da geoprópolis poderia explicar variações observadas entre as amostras (Barth et al., 2013). Segundo Barth et al. (1999) na busca pela caracterização geográfica da procedência da própolis, bem como da sua origem vegetal, análises qualitativas e quantitativas dos grãos de pólen presentes na própolis podem servir como indicativo.

Nossas amostras de Meliponídeos apresentaram uma grande concentração de fenóis totais de 14,43-87,71%. O teor de fenóis totais encontrado nas amostras atende ao regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis do Ministério da Agricultura, que é de no mínimo 5% (m/m) (Brasil, 2001). Dutra et al. (2008) encontrou teores de fenóis totais variando de 1,77-31,84%, com um conteúdo médio de 14,56%. Matos et al. (2014) nas suas diferentes amostras variaram de $36,78 \pm 1,52$ a $7,68 \pm 2,58$ mg para abelha *A. mellifera* no agreste da Bahia. Franchin et al. (2012b), também observaram alto teor de fenóis totais na geoprópolis produzido pela abelha *Melipona scutellaris* (uruçu). Woisky (1996), encontraram entre 8,78-13,72% de compostos fenólicos em própolis de *Apis mellifera* coletada em diferentes regiões do estado de São Paulo. Bonvehí & Coll (1994) encontraram 18,72% de substâncias fenólicas em amostras de própolis brasileira. Chaillou et al. (2004) utilizando própolis de *A. mellifera* coletadas em diferentes regiões da Argentina encontrou uma variação de 4,25-25,26% de compostos fenólicos, com um conteúdo médio de 15,91%. Os nossos EGP superaram o valor mínimo de 5% de fenóis totais, estabelecido na legislação brasileira para qualidade de própolis de *Apis mellifera* (Funari & Ferro, 2006), principalmente os EGP1, EGP2 e EGP15.

Em relação aos flavonoides totais as amostras apresentaram teores de flavonoides acima de 2% (variando de 10,39-77,08%), principalmente os extratos EGP2, EGP15 e EGP1 das

abelhas *M. fasciculata* e *M. subnitida*, que permitem classificá-los, de acordo com a legislação brasileira como própolis com alto teor de flavonoides. Dutra et al. (2008) em seu estudo com geoprópolis de *M. fasciculata* dos extratos analisados, 88,9% superam o valor mínimo de 0,25% flavonoides totais, estabelecido para extratos hidroalcoólicos de própolis na referida legislação (Woisky & Salatino 1998; Brasil, 2001; Funari & Ferro, 2006). O que nosso estudo vem a corroborar com dados sobre a abelha *M. fasciculata* e quantidade de flavonoides. A composição química da própolis é dependente da localização geográfica, a relação entre os fenólicos totais e flavonoides totais está relacionada com a flora e região da coleta (Bankova, 2005; Park et al., 2002).

Na capacidade antioxidante houve uma variação de 2,20-44,35%. E a amostra que obteve a maior atividade antioxidante foi EGP2 da abelha *M. fasciculata*. Segundo Dutra et al. (2014), na análise de DPPH um menor valor de IC₅₀ indica maior atividade antioxidante como observado na amostra EGP2 e também nas EGP3 e EGP13 comparado com as outras. No trabalho de Batista et al. (2016) com *M. fasciculata* com DPPH os extratos EGP4 e EGP3 apresentou maior atividade antioxidante em comparação com os EGP1 e EGP2. Silva et al. (2013) em sua pesquisa com geoprópolis de *Melipona interrupta* e *M. seminigra* os valores encontrados no resultado dos extratos das duas espécies de abelhas confirmaram o potencial de atividade antioxidante. Os autores destacam que um dos fatores determinante desta capacidade antioxidante é a influência da variabilidade da composição química e origem do material coletado por cada espécie de abelha.

Para Moure et al. (2001), as diferenças entre os resultados da atividade antioxidante podem acontecer por diversas causas, como concentração da amostra e método de determinação (sequestro de radicais ou oxidação lipídica, tempo de reação e solvente utilizado). A atividade antioxidante forte na própolis pode vir dos flavonoides, como quercetina, flavonas, isoflavonas, flavononas, antocianinas, catequinas e isocatequinas. Porém os fenólicos podem participar juntos com os flavonoides na determinação dessas atividades antioxidantes (Castro et al., 2007; Silva et al., 2006).

Houve uma variação no teor de compostos fenólicos e flavonoides entre as diferentes amostras das quatro espécies de *Melipona* analisadas. A amostra EGP2 de *M. fasciculata* apresentou a maior concentração de fenóis totais, flavonoides e atividade antioxidante respectivamente. No trabalho de Lima (2015), a atividade antioxidante total do extrato da abelha Manduri foi a que apresentou melhor atividade (2,7 e 2,75 mmol/L), o que pode ser explicado pelo alto teor de compostos fenólicos e flavonoides encontrados na amostra (Moreira et al. 2008). Em Cardoso et al. (2015), os teores de fenóis totais, de flavonoides e a capacidade antirradicalar dos extratos de geoprópolis dependeram fortemente da espécie de abelha

produtora da geoprópolis e, esses parâmetros foram maiores para a geoprópolis de Manduri, independentemente da época da coleta. Esta variação no teor de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante nos diferentes estudos pode ser devido a diferença na época e tempo de coleta da própolis, na vegetação ou no tipo de solo coletado pelas abelhas (Lima, 2015), uma vez que o método de extração e o solvente extrator utilizado nesse estudo foi o mesmo.

Cunha et al. (2004) realizaram a avaliação do rendimento dos extratos de própolis frente ao teor de polifenóis variando as soluções extrativas e os métodos de extração. Estes autores observaram que apesar da extração com etanol absoluto proporcionar maior rendimento do teor de sólidos, as soluções etanólicas entre 60 e 80% (V/V) levam a um melhor rendimento no teor de substâncias fenólicas. Borges & Blochtein (2005) observaram que existe uma diferença nas atividades externas de espécies de abelhas sem ferrão de acordo com as estações do ano, como a atividade de voo e de polinização, o que pode interferir na expressão de metabólitos secundários ativos em resinas, como a geoprópolis, e no mel, bem como na atividade biológica. Isso pode explicar as diferenças nos teores de substâncias fenólicas entre as quatro espécies analisadas.

De Melo et al. (2012) observaram quantidades variáveis de fenólicos totais e, especificamente, de flavonoides totais, em amostras de própolis coletadas nas regiões Nordeste, Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. Cabral et al. (2012) apontam que outros compostos, além dos fenólicos, podem ser responsáveis pela capacidade antioxidante da própolis. Borges & Blochtein (2005) observaram que existe uma diferença nas atividades externas de espécies de abelhas sem ferrão de acordo com as estações do ano, como a atividade de voo e de polinização, o que pode interferir na expressão de metabólitos secundários ativos em resinas, como a geoprópolis, e no mel, bem como na atividade biológica. Isso pode explicar as diferenças nos teores de substâncias fenólicas entre os extratos analisados, já que os mesmos foram coletados no mesmo meliponário e alguns em épocas distintas. A vegetação do local onde a geoprópolis foi coletada e a variabilidade genética das abelhas rainhas pela flora local podem interferir na composição química desta resina (Park et al., 1998; Park et al., 2003; Koo & Park, 1997; Bankova, 2005; Sousa et al., 2007; Dos Santos et al., 2003).

Para Da Silva Oliveira et al. (2011), tendo em vista que o consumo frequente de antioxidantes está associado com a baixa incidência de declínio do sistema imune, doenças degenerativas, entre as quais o câncer, diabetes, artrite, doenças cardiovasculares e até mesmo disfunções cerebrais, a constatação da atividade antioxidante nos extratos da geoprópolis poderá contribuir para validar seu uso medicinal, uma vez que a utilização como remédios

caseiro dos produtos elaborados pelos meliponíneos (mel, pólen, própolis e geoprópolis) (Souza et al., 2004) faz parte dos hábitos de muitas comunidades rurais da Amazônia brasileira .

CONCLUSÕES:

Algumas das principais fontes vegetais no Brasil para elaboração de própolis são as espécies *Dalbergia ecastophyllum* (rabo-de-bugio), *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo) e *Araucaria angustifolia* (pinheiro brasileiro), com outras espécies visitadas em menor proporção. Os resultados obtidos neste estudo mostram que outras fontes de exsudados vegetais também são importantes para geoprópolis como *Anacardium*, *Clusia*, *Clusia grandiflora*, *Hyptis*, *Protium*, *Tapirira* e *Symphonia globulifera*. A análise dos grãos de pólen presentes na própolis, embora sugestiva, não pode ser utilizada para afirmar sua origem vegetal, somente a sua procedência fitogeográfica. Embora as amostras tenham apresentado grãos de pólen com predominância em sua composição, não se sabe se esse pólen resulta da visita de abelhas destinada à coleta de matéria-prima, para a elaboração exclusivamente de geoprópolis, ou se é resultante de contaminação da amostra pelas abelhas, durante a execução de outras atividades.

Preparações de própolis com alto teor de flavonoides são vendidas a preços mais altos e têm mercado externo garantido. Ressalta-se a falta de legislação para produtos das abelhas nativas (Meliponini), o que dificulta ainda a comercialização dos seus produtos que também apresentam boa qualidade. Tendo em vista que as amostras analisadas de geoprópolis apresentaram valores de polifenóis semelhantes aos de própolis de *Apis mellifera*, demonstrando a potencialidade do produto. Os teores de fenóis e flavonoides dos extratos hidroalcoólicos de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida*, permitiu demonstrar a caracterização química do produto, base para estabelecer um perfil de garantia de qualidade para o mesmo.

Os resultados obtidos no presente estudo indicam que a espécie de abelha e a época de coleta, bem como a interação entre esses fatores, influenciam a concentração de compostos bioativos e a capacidade antirradicalar da geoprópolis. Então, os dados obtidos neste estudo ressaltam a importância do controle de qualidade e contribuem para a caracterização desse tipo de própolis, que é a geoprópolis, produzidas por abelhas sem ferrão na região da Amazônia Maranhense.

AGRADECIMENTOS:

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida à primeira autora e financiamento do projeto. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelas bolsas de Produtividade em Pesquisa a CFPL, PMCA e MNSR. Ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo pelo uso das instalações e equipamentos do Núcleo de Pesquisa em Palinologia. A equipe do Laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal do Maranhão pela identificação e análises realizadas. A professora Dr^a. Eleuza Gomes Tenório e a Universidade Estadual do Maranhão pela ajuda em algumas coletas e na concretização de etapas do projeto. Aos meliponicultores por cederem o meliponário e umas caixas de abelhas para realização do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Absy, M.L., Kerr, W.E., Marques-Souza, A.C., Camargo, J.M.F. (1996) Estudos palinológicos com Meliponideos na Amazônia. In Anais do XI Congresso Brasileiro de Apicultura, Teresina (PI). 281-285.

Abreu, B.V.B. (2011) Prospecção química de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith. São Luis, 53p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão.

Alves de Souza, S. et al. (2013) Composition and antioxidant activity of geopropolis collected by *Melipona subnitida* (Jandaira) bees. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2013.

Alencar, S. M., Oldoni, T.L.C., Castro, M.L., Cabral, I. S. R., Costa-Neto, C. M., Cury, J. A. & Ikegaki, M. (2007) Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. Journal of ethnopharmacology, 113(2), 278-283.

Araújo, M.J.A.M et al. (2015) The chemical composition and pharmacological activities of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in Northeast Brazil. Journal of Molecular Pathophysiology, p. 12-20.

Banskota, A. H., Tezuka, Y., & Kadota, S. (2001) Recent progress in pharmacological research of propolis. Phytotherapy Research, 15(7), 561-571.

Bankova, V.; Christov, R.; Marcucci, M. C.; Popov, S. (1998) Constituents of Brazilian Geopropolis. Z. Naturforsch. 53c,

Bankova, V. (2005) Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. Journal of ethnopharmacology, 100(1), 114-117.

Barth, O.M. (1998) Pollen analysis of Brazilian propolis. Grana, 37, 97-101.

Barth, O. M. (2004) Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. Scientia Agricola, 61(3), 342-350.

Barth, O.M., Luz, C.F.P. (2003) Palynological analysis of Brazilian geoprópolis sediments. Grana, 42, 121-127.

Barth, O.M., Freitas, A.S., Matsuda, A.H., Almeida-Muradian, B.A. (2013) Botanical origin and Artepillin-C content of Brazilian propolis samples. Grana 52: 129-135. Retirado de: <http://dx.doi.org/10.1080/00173134.2012.747561>.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995) Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm-Wiss. Technol., London, v.28, p.25-30.

Barros, M.H.M.R., Luz, C.F.P., ALBUQUERQUE, P.M.C. (2013) Pollen analysis of geopropolis of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (Meliponini, Apidae, Hymenoptera) in areas of Restinga, Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. Grana, 52 (22), 81-92.

Brasil (2001) Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução normativa nº 3 – Anexo VI – Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil. Brasília, Brasil.

Biesmeijer, J.C., Slaa, E.J., Castro, M. S. de., Viana, B.F., Kleinert, A., Fonseca, V.L. I. (2005) Connectance of Brazilian social bee - food plant networks is influenced by habitat, but not by latitude, altitude or network size. Biota Neotropica, Campinas, 5, 1-9.

Bonvehí, J. S.; Coll, F. V. (1994) Phenolic composition of propolis from China and South America. Zeitschrift für Naturforschung, v. 49, n. 12, p. 712-718.

Borges, F.V.B., & Blochtein, B. (2005) Atividades externas de *Melipona marginata obscurior* Moure (Hymenoptera, Apidae), em distintas épocas do ano, em São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia, 22(3), 680-686.

Cabral, E.L. (1991) Rehabilitación del género *Galianthe* (Rubiaceae). Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, 27, 217-231.

Cabral, I.S.R., Oldoni, T.L.C., Alencar, S.M., Rosalen, P.L.; Ikegaki, M. (2012) The correlation between the phenol composition and biological activities of two varieties of Brazilian propolis (G6 and G12). Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 48: 557-56 112

Castro, M.L., Cury, J.A., Rosalen, P.L. (2007) Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. *Quimica. Nova*, 30: 1512-1516.

Cardozo, D. V., Mokochinski, J. B., Machado, C. S., Sawaya, A. C. H. F., Caetano, I. K., Felsner, M. L., & Torres, Y. R. (2015) Variabilidade química de geoprópolis produzida pelas abelhas sem ferrão Jataí, Mandaçaia e Mandurí. *Revista Virtual de Química*, 7(6), 2456-2474.

Cinegaglia, N. C., Bersano, P. R. O., Búfalo, M. C., & Sforcin, J. M. (2013) Cytotoxic action of Brazilian propolis in vitro on canine osteosarcoma cells. *Phytotherapy Research*, 27(9), 1277-1281.

Corrêa, M. P. (1926) *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Cortopassi-Laurino, M., Ramalho, M. (1998) Pollen harvest by Africanized *Apis mellifera* and *Trigona spinipes* in São Paulo: botanical and ecological views. *Apidologie*, 19 (1), 1-24.

Chaillou L.L., Herrera H.A., Maidana, J.F. (2004) Estudo de própolis de Santiago Del Estero, Argentina. *Cien Tecnol Aliment* 24: 11-15.

Cunha, I.B.S., Sawaya, A.C.H.F., Caetano, F.M., Shimizu, M.T., Marcucci, M.C., Drezza, F.T., Povia, G.S., Carvalho, P.O. (2004) Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 15, 964–970.

Da Cunha, M.G., Rosalen, P. L., Franchin, M., De Alencar, S. M., Ikegaki, M., Ransom, T., & Beutler, J. A. (2016) Antiproliferative constituents of geoprópolis from the bee *Melipona scutellaris*. *Planta medica*, 82(03), 190-194.

Dai, J., Mumper, R.J. (2010) Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, v. 15, n. 10, p. 7313-7352.

Da Silva J.F.M., Souza M.C., Matta S.R., Andrade, M.R., Vidal F.V.N. (2006) Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem* 99: 431-435.

Da Silva Oliveira, D., Aquino, P.P., Ribeiro, S. M. R., da Costa Proença, R.P., & Pinheiro-Sant'Ana, H.M. (2011) Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais-doi: 10.4025/actascihealthsci. v33i1. 8052. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, 33(1), 89-98.

D'albore, G.R. (1979) L'origine géographique de la propolis. *Apidologie*, 10(3), 241-267.

De Castro S.L. (2001) Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. *Ann Rev Biomed Sci* 3: 49–83.

De-Melo, A.A.M., Matsuda, A.H., Almeida-Muradian, L.B. (2012) Identidade e qualidade da própolis proveniente de quatro regiões do Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 540-548.

Dórea, M.D.C., Aguiar, C.M.L., Figueroa, L.E.R., Lima, L.C.L., & Santos, F.D.A.R. D. (2010) Residual pollen in nests of *Centris analis* (Hymenoptera, Apidae, Centridini) in an area of Caatinga vegetation from Brazil. *Oecologia australis*, 14(1), 232-237.

Dos Santos, C.R., Arcenio, F., Carvalho, E.S., Lúcio, E.M.R A., Araújo, G. L., Teixeira, L. A., & Rocha, L. (2003) Otimização do processo de extração de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13, 71-74.

Dutra, R. P., Nogueira, A.M.C., Marques, R.R.D.O., Costa, M.C.P., & Ribeiro, M.N. S. (2008) Pharmacognostic evaluation of geopropolis of *Melipona fasciculata* Smith from Baixada Maranhense, Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(4), 557-562.

Dutra, R. P., Abreu, B. V. D. B., Cunha, M. S., Batista, M. C. A., Torres, L. M. B., Nascimento, F. R. F. & Guerra, R. N. M. (2014) Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(12), 2549-2557.

Erdtman, G. (1960) The acetolysis method. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54: 561-564.

Fianco A.L.B., Falcão M.A., Cassel E. & Milão D. (2013) Determinação da atividade antimicrobiana e teor de polifenóis totais de extratos etanólicos de própolis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Jataí) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna). *Revta Liberato* 14(21):1-112.

Franchin, M., da Cunha, M.G., Denny, C., Napimoga, M.H., Cunha, T.M., Koo, H., & Rosalen, P.L. (2012) Geopropolis from *Melipona scutellaris* decreases the mechanical inflammatory hypernociception by inhibiting the production of IL-1 β and TNF- α . *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 709-715.

Freitas, M.O., Ponte, F.A., Lima, M.A.S., Silveira, E.R. (2008) Flavonoids and triterpenes from the nest of the stingless bee *Trigona spinipes*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19 (3) 532-535.

Funari C.S., Ferro, V.O. (2006) Análise de própolis. *Cien Tecnol Aliment* 26: 171-178.

Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N. (2011) Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of medicinal plants research*, v. 5, n. 31, p. 6697-6703.

Gonçalves, S.J.M., Rêgo, M.M.C., Araújo, A. (1996) Abelhas sociais (Hymenoptera: Apidae) e seus recursos florais em uma região de mata secundária, Alcântara, MA, Brasil. *Acta Amazônica*. 26, 55-68.

Heard, T.A. (1999) The role of stingless bees in crop pollination. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, 44, 183-206.

Hueck, K. (1972) As florestas da América do Sul. São Paulo: Polígono, 206-239.

Jardim, M.A.G., Zoghbi, M.G.B. (2008) A flora da Resex Chocoaré – Mato Grosso (PA): Diversidade de usos. Belém: MPEG. 36-76p.

Kerr, W.E. (1987) Sex determination in bees. XXI. Number of XO-heteroalleles in a natural population of *Melipona compressipes fasciculata*. *Insects Sociaux*, 34 (4), 274– 279.

Kleinert, A. M., Ramalho, M., Cortopassi-Laurino, M., Ribeiro, M. F., & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2009) Abelhas sociais (Bombini, Apini, Meliponini). *Bioecologia e nutrição de insetos-Base para o manejo integrado de pragas*, 373-426.

Kisser, J. (1935) Bemerkungen Zum Einschluss in glycerim Z. Hiss. 51 p.

Koo, M. H., & Park, Y. K. (1997) Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 61(2), 367-369.

Liberio, S. A., Pereira, A. L. A., Dutra, R. P., Reis, A. S., Araújo, M. J. A., Mattar, N. S., & Monteiro-Neto, V. (2011) 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), 108.

Lima M.V.D. (2015) Geoprópolis produzida por diferentes espécies de abelhas: atividades antimicrobiana e antioxidante e determinação do teor de compostos fenólicos. Dissertação de Mestrado. Disponível em: <http://www.ppgcf.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/dissertacoes/marcuslima.pdf>. Acesso em 10 mai. 2016.

Manrique, A., & Santana, W. (2008) Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. de Brasil y Venezuela. *Zootecnia Trop*, 26(2), 157-166.

Marcucci, M. C., Woisky, R. G., & Salatino, A. (1998) Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonoides em amostras de própolis. *Mensagem doce*, 46, 3-8.

Marcucci, M. C., Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Bankova, V. S., De Castro, S. L., Dantas, A. P. & Paulino, N. (2001) Phenolic compounds from Brazilian propolis pharmacological activities. *Journal of ethnopharmacology*, 74(2), 105-112.

Marques-Souza, A.C., Absy, M. L., Condé, P. A. A., Coelho, H. A. (1993) Dados da obtenção de pólen por operárias de *Apis mellifera* no município de Ji-Paraná (RO), Brasil. *Acta Amazônica*, 23,1, 57-76.

Matos, A. P., Nebo, L., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., SILVA, M.F.D.G.F.D. & Rodrigues, R. R. (2009) Constituintes químicos e atividade inseticida dos extratos de frutos de *Trichilia elegans* e *T. catigua* (Meliaceae). *Química Nova*, 32(6), 1553-1556.

Matos, V. R., Alencar, S.M., Santos, F.A. (2014) Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L.(Apidae) in an area of the Semiarid Region of Bahia, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86 (1), 407-418.

Menezes, J.D.S., Maciel, L.F., Miranda, M.S & Druzian, J.I. (2010) Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). *Rev Inst Adolfo Lutz* 69: 233-242.

Mesquita, L.S.S., Mesquita, J.W.C.; Dutra, R.D., Batista, M.C.B., Malik, S., Amaral, F. M.M., Ribeiro, M.N.S. (2016) Extraction parameters affect flavonoids content and antioxidant activities in *Passiflora edulis*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, v. 8, p. 99-107.

Michener, C.D. (1974) The social behavior of the bees. Harvara University. Press, 404p.

Michener, C.D. (1979) Biogeography of the bees. *Annals of the Missouri botanical Garden*, 277-347.

Michener, C.D. (2000) The bees of the world. JHU Press.

Ministério do Trabalho e emprego. (2012) Identidade coletiva e organização produtiva dos apicultores do alto turi maranhense: o caso da Turimel.

Muniz, F.H. (2011) Efeito do manejo florestal sobre a composição florística e fitossociologia da floresta na Amazônia maranhense. In *Amazônia Maranhense: Diversidade e Conservação* – Belém: MPEG, 328.

Müller, I. (1947) Die pollen analttische nachweis der menschlichen Besiedlung im Federsee-und bodenseegebiet. *Planta*. 36p.

Mccune, B., Mefford, M.J. (1999) PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data, version 4.10. MjM Software Design, Oregon.

Martins, A.C.L., Rêgo, M.C., Carreira, L., Albuquerque, P.M.C. (2011) Espectro polínico do mel de tiúba (*Melipona fasciculata* Smith, 1854, Hymenoptera, Apidae). *Acta Amazônica*, 41 (2), 183 – 190.

Matsuno, T. (1995) A new clerodane diterpenoid isolated from propolis. *Zeitschrift für Naturforschung c*, v. 50, n. 1-2, p. 93-97.

Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, J. A., Estevinho, L. (2008) Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. Food and Chemical Toxicology, 46, 3482 – 3485.

Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Dominguez, J. M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M. J., Parajo, J. C., (2001) Food Chem. 72, 145.

Nagaoka, T., Banskota, A.H., Tezuka, Y., Midorikawa, K., Matsushige, K., Kadota, S. (2003) Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) analogues: potent nitric oxide inhibitors from the Netherlands propolis. Biological and Pharmaceutical Bulletin, v.26, n.4, p.487-491.

Nogueira-Neto, P. (1997). Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. São Paulo, Nogueirapis.

Oliveira, F.A., Costa, C.L., Chaves, M.H., Almeida, F. R., Cavalcante, I.J., Lima, A.F., Lima, R.C., JR, Silva R.M., campos, A.R., Santos, F.A., Rao, V.S. (2005) Attenuation of capsaicin-induced acute and visceral nociceptive pain by α and β amyrin, a triterpene mixture isolated from Protium heptaphyllum resin in mice. Life Sciences, 77, 2942-2952.

Paula-Eduardo, L.F.D. (2014) Isolamento e identificação de compostos bioativos da geoprópolis (*Melipona scutellaris*) bioguiado pelo efeito antimicrobiano= Isolation and identification of bioactive compounds of geopropolis (*Melipona scutellaris*) bioguided by the antimicrobial effect.

Park, Y.K., Koo, M.H., Abreu, J.A.S., Ikegaki, M., Cury, J.A., Rosalen, P.L. (1998) Antimicrobial activity of propolis on oral micro organisms. Current Microbiology, v.36, p.24-28.

Park, Y.K., Alencar, S.M., Scamparini, A.R.P., Aguiar, C.L. (2002) Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. Ciência Rural, 2, 997-1003.

Park, Y. K., Paredes-Guzmán, J., Aguiar, C. L., & Fujiwara, F. (2003). Estudo das própolis que contém Artepillin C. Mensagem Doce, 74, 9-16.

Park, Y. K., Paredes-Guzman, J. F., Aguiar, C. L., Alencar, S. M., & Fujiwara, Y. (2004) Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(5), 1100-1103.

Pesce, C. (2009) Oleaginosas da Amazonia, 2. ed. Belém: MPEG/NEAD.

Ramalho, M., Kleinert-Giovannini, A., Imperatriz-Fonseca, V. L. (1990) Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and *Trigonini*) and africanized honeybees (*Apis mellifera*) in habitats: a review. Apidologie, 21, 469-488.

Ramalho, M. (2004) Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. Acta botânica brasileira, 18, 1, 37-47.

Rêgo, M. C., Albuquerque, P. M. C., Venturieri, G. C. (2008) Menos locais para ninhos. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, 42, 50-51.

Ribeiro, J.E.L.S. (1999) Flora da Reserva ducke: Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/DFID, Midas Printing, Manaus, Brasil, p. 816.

Salatino, A., Teixeira, E.W., Negri, G. (2005) Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(1), 33-38.

Salatino, A., Fernandes-Silva, C. C., Righi, A. A., & Salatino, M. L. F. (2011) Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural product reports*, 28(5), 925-936.

Santos, C.G., Santos, K.C., Tirelli, F.P., Blochtein, B. (2009) Caracterização sazonal de acúmulos isolados de própolis em colônias de *Plebeia emerina* (Hymenoptera, Apidae) no sul do Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 99, 200- 203.

Santos, F.A.R. (2011) Identificação botânica do pólen apícola. *Magistra* 23: 5-9.

Sawaya, A.C.H.F., Da Silva Cunha, I. B., Marcucci, M. C., Aidar, D. S., Silva, E. C. A., Carvalho, C. A. L., Eberlin, M. N. (2007) Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of propolis of native Brazilian stingless bees. *Apidologie*, 38(1), 93-103.

Silveira, F.A., Melo, G.A.R., Almeida, E.A.B. (2002) Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte, Ministério do Meio Ambiente.

Shepherd, G. J. (1996) Fitopac 1: manual do usuário. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Silva, J.F.M., Souza, M.C., Matta, S.R., Andrade, M.R., Vidal, F.V.N. (2006) Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem* 99: 431-435.

Silva, B.B. et al. (2007) Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, New York, v. 5, n. 3, p. 313-316.

Silva, E.C.D. (2012) Estudo da composição química e atividade biológica da geoprópolis de *Melipona interrupta* e *Melipona seminigra*.

Silva, E.C.C., Muniz, M.P., Nunomura, R.C.S., Nunomura, S.M., Zilse, G.A.C. (2013) Constituintes fenólicos e atividade antioxidante da geoprópolis de duas espécies de abelhas sem ferrão amazônicas. *Química Nova*, 36: 628-633.

Sokal, R.R., Rohlf, F.J. (1996) Biometry: The principle and practice of statistics. Biological Research. 2 ed. New York: W. H. Freeman and company.

Souza, R.C., Yuyama, L.K.O., Aguiar, J.P.L., Oliveira, F.P.M. (2004) Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. *Acta Amazônica*. 34 (2).

Sousa, J. P., Furtado, N.A.J.C., Jorge, R., Soares, A.E., & Bastos, J.K. (2007) Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. *Rev bras farmacogn*, 17(1), 85-93.

Souza, H.R.D., Corrêa, A.M.D. S., Cruz-Barros, M.A.V.D., Albuquerque, P.M.C.D. (2015) Pollen spectrum of *Scaptotrigona* aff. *postica* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) propolis from Barra do Corda, MA, Brazil. *Acta Amazonica*, 45(3), 307-316.

Steyermark, J.A., Borreria G.F. Meyer. (1972) The botany of the Guayana highland, part IX. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 23, 805-831.

Teixeira, E.W., Messsage, D., Meira, R. M. S A., Salatino, A. (2003). Indicadores da origem botânica da própolis, importância e perspectivas. Revisão bibliográfica. *Boletim da Indústria Animal*, 60, 83-106.

Tepedino, V.J. & Stanton, N.L. (1981) Diversity and competition in bee-plant communities on short-grass prairie. *Oikos*, 35-44.

Venturieri, G.C., Raiol, V. D. F. O., Pereira, C. A. B. (2003) Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae: Meliponina), entre os agricultores familiares de Bragança-PA, Brasil. *Biota Neotropica*, 3(2), 1-7.

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. (2012) 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, 213-236.

Viana, B. F., Silva, F. O.D, Kleinert, A. D. M. (2006) A flora apícola de uma área restrita de dunas litorâneas, Abaeté, Salvador, *Revista Brasileira de Botânica*, 29(1), 13-25.

Woisky, R.G.; Salatino, A. (1998) Analysis os propolis: some parameters ond prodecure for chemical fuality control. *Journal Apicultural Research*, v. 37, n. 2, p. 99-105.

Análise palinológica e composição química da geoprópolis de *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854 em uma região da Amazônia Maranhense, Brasil.

Palynological analysis and chemical composition of the *Melipona (Melikerria) fasciculata* smith 1854 geopropolis from a region of the Amazon Maranhense, Brazil.

Monique Hellen Martins Ribeiro , Cynthia Fernandes Pinto da Luz , Patrícia Maia Correia de Albuquerque, Ludmilla Santos S. de Mesquita, Mayara Soares Cunha Carvalho & ³Maria Nilce Sousa Ribeiro.

Artigo que será submetido a Revista Brasileira de Farmacognosia (ISSN: 0102-695X)

Laboratório de Estudos sobre Abelhas, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Maranhão, Brasil, Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo, Brasil
,³Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Maranhão, Brasil.

Correspondence: Monique Hellen M. Ribeiro, *Laboratório de Estudos sobre Abelhas, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Maranhão, Avenida dos Portugueses, s.n., Campus Universitário do Bacanga, 65085-580 São Luís, MA, Brasil.*
monique.hrbio@gmail.com

Resumo: Investigamos a composição química de quatro amostras (Dezembro/2013 -GP1, Fevereiro/2014 -GP2, Junho/2014 -GP3 e Julho/2014 -GP4) da geoprópolis de *Melipona (Melikerria) fasciculata* por cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (CL-EM) e analisamos os tipos polínicos presentes nas mesmas. As amostras foram coletadas em um meliponário localizado no município de Santa Luzia do Paruá, situado a oeste do Estado do Maranhão, Brasil. A metodologia utilizada para a identificação dos tipos polínicos foi a de Barth (1998) e a análise por CLAE foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a um detector de ultravioleta. Identificou-se um total de 13 tipos polínicos pertencentes a 10 famílias. Destacou-se a importância dos seguintes tipos polínicos identificados nas amostras: *Anacardium*, *Ardisia*, *Borreria verticillata*, *Eucalyptus*, *Hyptis*, *Manguijera*, *Protium*, *Tapirira* e *Vernonia*. Foi revelada a presença de vários compostos, que foram tentativamente caracterizados como ácido quínico, derivados de benzofenonas, flavonoide O-glicosilado e xantonas. O composto mangiferina esteve presente em todas as amostras. Também foi verificada a presença de benzofenonas que parecem estar envolvidas na biossíntese de xantonas glicosiladas. A composição química da geoprópolis varia com a localização das espécies de abelhas. A variação nos compostos fenólicos pode indicar a geoprópolis como uma matéria prima rica fonte de compostos bioativos com grande potencial farmacológico inclusive para a área da saúde.

Palavras-Chave: HPLC massa, Geoprópolis, Xantonas, Compostos fenólicos.

Abstract: We investigated the chemical composition of four samples (December / 2013 -GP1, February / 2014 -GP2, June / 2014 -GP3 and July / 2014 -GP4) from the geopropolis of *Melipona (Melikerria) fasciculata* by high performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS) and analyzed the pollen types present in them. Samples were collected in a meliponarium located in the municipality of Santa Luzia do Paruá, located to the west of the State of Maranhão, Brazil. The methodology used to identify the pollen types was that of Barth (1998) and analysis by HPLC was performed on a high efficiency liquid chromatograph coupled to an ultraviolet detector. A total of 13 pollen types belonging to 10 families were identified. The following pollen types were identified: *Anacardium*, *Ardisia*, *Borreria verticillata*, *Eucalyptus*, *Hyptis*, *Manguijera*, *Protium*, *Tapirira* and *Vernonia*. The presence of various compounds which have been tentatively characterized as quinic acid, benzophenone derivatives, O-glycosylated flavonoid and xanthonenes have been revealed. The mangiferin compound was present in all samples. It was also verified the presence of benzophenones that appear to be involved in the biosynthesis of glycosylated xanthonenes. The chemical composition of the geopropolis varies with the location of the bee species. This variety of phenolic compounds indicates that this raw material represents a rich source of bioactive compounds with great pharmacological potential including health.

Key words: HPLC Mass, Geopropolis, Xanthonenes, Phenolic Compounds.

INTRODUÇÃO:

A própolis é um produto apícola elaborado a partir de material resinoso, gomoso e balsâmico coletado das plantas pelas abelhas, o qual elas modificam acrescentando secreções salivares, cera e pólen enquanto a geoprópolis diferencia-se da própolis, pois apresenta sedimento de terra ou barro usado na sua elaboração (Barth, 1998; Barth et al., 1999; Barth & Luz, 2003), tendo sido assim denominada por Nogueira-Neto (1962) para distinguir o tipo especial de própolis preparada por muitas abelhas sem ferrão, especialmente do gênero *Melipona* como: Uruçu nordestina (*Melipona scutellaris*), Manduri (*M. marginata*), Mandaçaia (*M. quadrifasciata*), Jandaíra (*M. subnitida*), Tujuba (*Melipona rufiventris mondury*), Tiúba (*Melipona fasciculata*) dentre outras (Nogueira-Neto, 1997).

A geoprópolis diferencia-se da própolis, pois apresenta sedimento de terra ou barro usado na sua elaboração (Barth, 1998; Barth et al., 1999; Barth & Luz, 2003), tendo sido assim denominada por Nogueira-Neto (1962) para distinguir o tipo especial de própolis preparada por muitas abelhas sem ferrão.

A composição química da própolis e geoprópolis variam de região para região e suas substâncias são variáveis dependendo do local de coleta (Greenaway et al, 1990; Marcucci 1995, 1996). Mais de trezentas substâncias foram identificadas em amostras de própolis, que de modo geral, contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 5-10% de óleos essenciais, 5% de grãos de pólen, além de pequenas quantidades de alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6), ácido nicotínico (B3), ácido ascórbico (C), alfatocoferol (E) e ácido pantotênico (B5) (Ghisalberti et al., 1979). As técnicas mais frequentes utilizadas para a análise e determinação dos constituintes químicos da geoprópolis são a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e ressonância magnética nuclear (RMN) (Dutra et al., 2014; Araújo et al., 2015; Batista et al., 2016; Cunha et al., 2016).

Dados da literatura têm mostrado que geoprópolis possui atividade antibacteriana (Manrique & Santana, 2008), antiinflamatória e antiprolifertiva (Cunha et al., 2013; Cunha et al., 2016), antimicrobiana (Liberio et al., 2011), imunomoduladora (Liberio et al., 2011) propriedades gastroprotetoras (Ribeiro-Junior et al., 2015), antioxidante (Dutra et al., 2014; Batista et al., 2016) e contém uma alta concentração de compostos fenólicos e flavonoides (Popova, 2007; Dutra et al., 2008). Segundo Dutra et al. (2008) as variações qualitativa e quantitativa desses flavonoides e de outros constituintes químicos nas amostras analisadas são afetadas pela flora visitada pelas abelhas, região geográfica e fatores ambientais, o que é demonstrado em alguns trabalhos já realizados com a geoprópolis de *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith 1854 no Maranhão: Batista et al. (2016) analisaram a composição química e atividade antioxidante de geoprópolis produzidas por *M. fasciculata* em 02 ambientes no estado Maranhão, em campos inundados e em áreas de cerrado do estado do Maranhão, demonstrando que os triterpenos e o ácido fenólico (ácido protocatecuico predominam nas geoprópolis de campos alagados enquanto que os ácidos fenólicos, ácido gálico e ácido elágico foram os principais compostos da geoprópolis do Cerrado. Os triterpenos também foram o grupo principal de compostos encontrados por Abreu (2011) em três municípios nos campos inundados.

Trabalhos feitos com a geoprópolis de *M. fasciculata* apresentaram resultados interessantes, como a diminuição em 48,5% de colônias de *Streptococcus mutans* na saliva de pacientes indicando ser ela um excelente auxiliar no tratamento e prevenção de cáries (Duailibe et al., 2004). Cinegaglia et al. (2013), demonstraram ação anticâncer da geoprópolis de *M. fasciculata* sobre osteosarcoma canino. Libério et al. (2011) comprovaram ação antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, com atividade inibitória significativa contra os biofilmes de *S. mutans* e atividade imunomoduladora podendo ser utilizado em processos inflamatórios. Também já há estudos propondo o uso da geoprópolis combinada a drogas anticâncer, sendo ela uma abordagem quimioterápica para o tratamento do câncer laríngeo (Bartolomeu et al., 2016).

A geoprópolis de outras espécies de abelhas sem ferrão também tem sido estudadas: Freitas et al. (2008) do extrato etanólico da geoprópolis do ninho de *Trigona spinipes* (Fabricius, 1793) isolaram os triterpenos cicloartanos, ácido magniferólico e ácido 3 β -hidroxí-24-metilenocicloartan-26-óico, além dos flavonoides 3'-metilquercetina, sakuranetina, ramnocitrina, tricetina e éter 7-metil aromadendrina como compostos majoritários. Abreu (2011) analisou a composição química de três amostras de geoprópolis produzida por *M. fasciculata*, oriundas dos municípios de São Bento e São João Batista, localizados no estado do Maranhão e mostrou que os triterpenos foram o grupo principal de compostos encontrados. Silva (2013) conseguiu isolar flavonoides como naringenina glicosilada, aromadendrina e naringenina da geoprópolis de *Melipona (Melikerria) interrupta* Latreille, 1811 e *Melipona (Michmelia) seminigra* Friese, 1903 na região Amazônica. Do extrato metanólico da mesma espécie coletada em Manaus foram isoladas miricetina glicosilada e naringenina glicosilada. A determinação da origem geográfica e, principalmente, a origem botânica aliada à fenologia da planta hospedeira, assim como a caracterização química faz-se importante no controle de qualidade e padronização das amostras para uma efetiva aplicação terapêutica (Alencar et al., 2005; Silva et al., 2016).

Desta forma, considerando a escassez de estudos sobre geoprópolis de *Melipona fasciculata* coletada na região amazônica, a crescente importância econômica da meliponicultura, e com o intuito de contribuir com parâmetros para padronização de produtos de abelha sem ferrão, esse trabalho teve como objetivo investigar a composição química de amostras da geoprópolis de *Melipona (Melikerria) fasciculata* da Amazônia.

MATERIAIS E MÉTODOS:

Obtenção das amostras e caracterização da área de coleta

Foram coletadas com auxílio de uma espátula amostras de geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata* nos meses de dezembro de 2013 (GP1), fevereiro (GP2), junho (GP3) e julho de 2014 (GP4) em um meliponário localizado em Santa Luzia do Paruá (02°32'36,2'' S; 45°46'26,9'' W), Maranhão, Brasil (Figura 1). Estas amostras foram armazenadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração até as análises.

O município de Santa Luzia do Paruá está situado a oeste do estado do Maranhão, na microrregião do Pindaré, região do Alto Turi. Essa região localiza-se predominantemente no ecossistema floresta, com alguma presença também do cerrado. Todo o seu perímetro encontra-se na chamada Amazônia maranhense, região de floresta influenciada pelo rio Turiaçu, que nasce na própria região, na Serra da desordem (MTE, 2012). Destacam-se na paisagem espécies vegetais de grande porte, como *Piranhea trifoliata* Baill. (piranheira), *Cenostigma tocantinum* Ducke (caneleiro), *Hymenaea courbaril* L. (jatobá), *Spondias lutea* L. (cajazinho), *Copaifera reticulata* Ducke (copaíba), *Hymenaea parvifolia* Huber (jatobá-curuba), assim como espécies com grande densidade de indivíduos como *Protium tenuifolium* Engl. (amesclão). Espécies raras também ocorrem como *Tabebuia impetiginosa* Mart. ex DC. Standl. (ipê-roxo), *Tabebuia serratifolia* (vahl) nichols (ipê-amarelo), *Parkia* sp. (faveira), *Astronium gracile* Engl. (muiracatiara), *Eschweilera amazonica* R. Knuth (juruparana), *Apuleia leiocarpa* (vog.) macbr (amarelão), *Lecythis usitata* R. Knuth (jarana), *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Decne & Planch (morototó), entre outras que respondem pela grande diversidade dessa área (Muniz, 2011).

Obtenção do polen a partir do geopropolis e análise polínica

A metodologia utilizada para preparação das amostras de geopropolis foi a de Barth (1998), iniciando-se pela extração de 0,5 g de cada amostra de geoprópolis em etanol. Foi feita

também a lavagem em água destilada e filtragem por tela de aço de 0,3 mm para eliminação de fragmentos maiores (Barros et al., 2013). Nesta etapa, o líquido filtrado foi colocado em agitador ultrassônico por 3 minutos utilizando-se tubos de plástico especiais providos de anel vedante e tela de nylon de malha de 5 μ m para eliminação de outros fragmentos. Antes da aplicação da mistura de acetólise de Erdtman (1960), prepararam-se lâminas de microscopia do sedimento retido na tela de aço de filtragem para a observação dos elementos figurados e material inorgânico, que podem auxiliar na caracterização das amostras de geoprópolis (Barth & Luz, 2003; Barth & Freitas, 2015). No final da preparação, de cada amostra confeccionaram-se lâminas permanentes em triplicatas com gelatina glicerizada e seladas por parafina (Kisser, 1935; Muller, 1947).

A identificação e registro fotográfico dos grãos de pólen foram feitos através de fotomicroscópio com câmera digital e análise de imagem por Software específico para captura de imagem. A avaliação palinológica foi baseada na interpretação da contagem no mínimo de 300 grãos de pólen por amostra, observados em microscopia óptica de 400 a 1000X de aumento. A determinação e identificação botânica dos tipos polínicos foram feitas através da comparação com a palinoteca de referência da área, de acordo com as instruções de Santos (2011) e, cujas lâminas se encontram no Laboratório de Estudos Sobre Abelhas (LEA). Os catálogos de pólen utilizados para auxiliar na identificação foram Carreira (1976), Palacios et al. (1991), Roubik & Moreno (1991), Carreira (1996), Velásquez & César (1999), Carreira & Barth (2003), Moura et al. (2004), Leal et al. (2011), dentre outros.

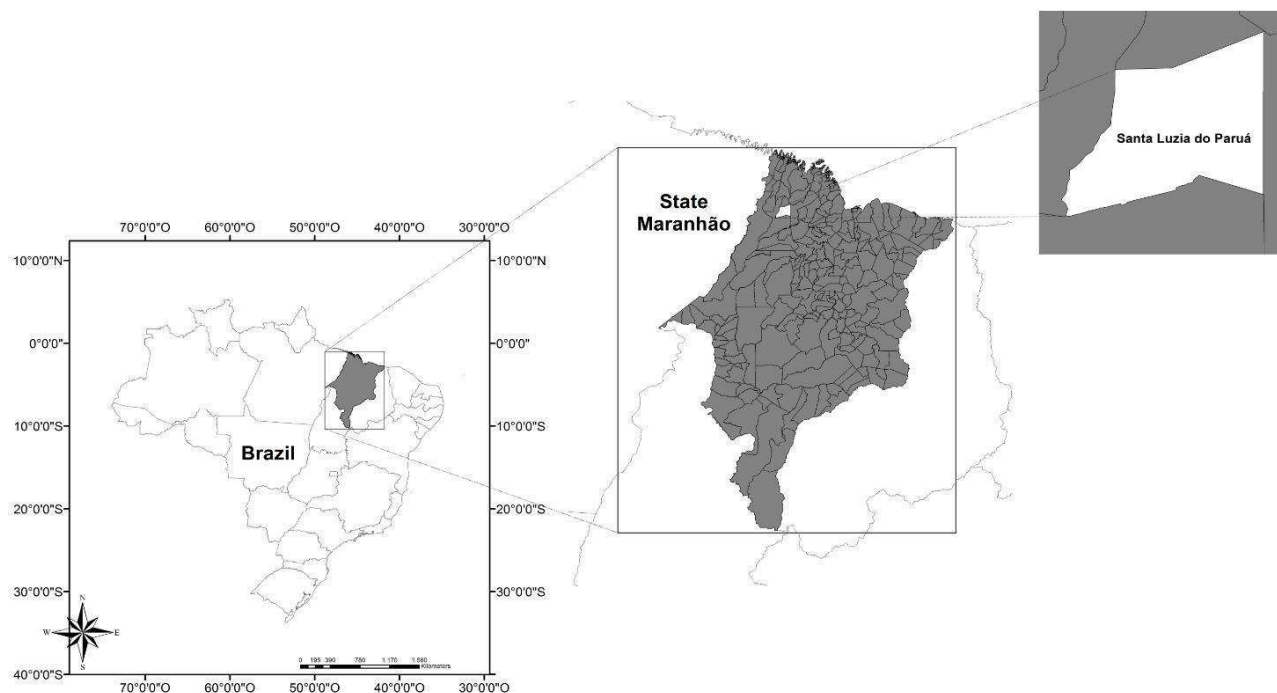


Figura 1: Localização do meliponário de coleta das amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*.

Preparo dos extratos hidroalcoolicos das geoprópolis

Cada amostra de geoprópolis foi triturada em moinho de facas para obtenção de um pó moderadamente grosso, em seguida submetidas separadamente à extração por maceração com etanol 70%, na proporção geoprópolis/solvente 1:2 (p/v) por 72h (02 extrações sucessivas). As soluções extrativas foram reunidas e concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 50 °C, obtendo-se ao final, quatro extratos hidroalcoólicos de geoprópolis que foram codificados como EGP1, EGP2, EGP3 e EGP4 (correspondendo aos geoprópolis coletados em dezembro de 2013, fevereiro, junho e julho de 2014, respectivamente).

Análise dos extratos hidroalcoolicos das geoprópolis por CLAE-UV-Vis

A análise por CLAE foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Thermo Finnigan Surveyor Plus) acoplado a um detector de ultravioleta. Foi usada uma coluna analítica ACE 5 C-18 de fase reversa (250 x 4,60 mm, 5 µm). Os compostos das amostras foram

separados em temperatura ambiente usando um gradiente de eluição com um fluxo de 0,6 ml/min. As fases móveis consistiram de água purificada contendo 0,1% de ácido fórmico (A) e acetonitrila (B). O gradiente usado foi: 0-30 min, 5-20% de B; 30-45 min, 20-70% de B. O volume de injeção no sistema de CLAE foi de 25 µL e a detecção no UV-Vis foi realizada a 259 e 281 nm (comprimento de onda que exibiram bandas de absorção na varredura por espectrometria).

Análise dos extratos hidroalcoólicos das geopropolis por CL-UV-ESI-EM/EM

As amostras foram analisadas em sistema de cromatografia líquida (CBM-20A - Shimadzu), com detector de ultravioleta, equipado com duas bombas (LC-20AD), injetor automático e acoplado com espectrômetro de massas (Bruker amaZon Speed ETD), com analisador tipo íon trap quadrupolo e ionização por electrospray (ESI). A análise cromatográfica foi realizada nas condições descritas no item anterior. Os espectros de massas foram obtidos em modo negativo, utilizando nitrogênio ultrapuro como gás de nebulização com fluxo de 12 l/min, pressão de 27 psi, potencial de 4.5 kV, temperatura de 300 °C, em baixa resolução, na faixa de m/z 100 a 1000. Os compostos foram identificados com base na massa do íon molecular e dados de fragmentação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Análise palinológica das amostras de geoprópolis:

Identificou-se um total de 13 tipos polínicos pertencentes a 10 famílias botânicas. Os tipos polínicos identificados no mês de dezembro de 2013 (GP1) foram *Croton* (Euphorbiaceae), *Borreria verticillata* (Fig.2-3), *Mimosa pudica* L. (Fabaceae) (Fig.2-10), *Myrcia/Psidium* (Fig.2-9), *Tapirira* (Anacardiaceae) e *Vernonia* (Fig.2-5). Em fevereiro de 2014 (GP2) *Anacardium* (Anacardiaceae) (Fig.2-1), *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. (Rubiaceae) e *Stryphnodendron* (Fabaceae). Em junho de 2014 (GP3) foram *Anacardium*

(Anacardiaceae), *Ardisia* (Myrcinaceae) (Fig.2-7), *Borreria verticillata* (Rubiaceae), *Eucalyptus* (Myrtaceae), *Mangifera* (Anacardiaceae), *Protium* (Burseraceae) (Fig.2-6), *Vernonia* (Fig.2-4) (Asteraceae) e *Zantholylum* (Rutaceae). Em julho de 2014 (EGP4) foram os tipos *Borreria verticillata*, *Hyptis* (Lamiaceae) (Fig.2-8), *Myrcia/Psidium* (Myrtaceae) e *Protium* (Burseraceae) (Tabela 1). A família que teve maior quantidade de tipo polínicos foi Fabaceae e Anacardiaceae (3 tipos polínicos). Os Meliponini são considerados espécies generalistas, onde os indivíduos possuem habilidade física, fisiológica e comportamental para visitar vários tipos de flores, sendo numericamente dominantes entre os insetos visitantes florais (Ramalho, 2004). No entanto, Kerr et al. (1986/87), Guibu et al. (1988) e Ramalho et al. (1989) ressaltaram que essas abelhas são seletivas e procuram explorar poucas fontes de alimentos. Os grãos de pólen nos produtos das abelhas são marcadores naturais e, por isso os tipos polínicos identificados podem fornecer uma indicação das preferências tróficas de *M. fasciculata*. Alguns autores mencionam que as abelhas podem apresentar premissas de preferência floral, que visam otimizar o custo e benefício do forrageio (Ramalho et al., 2007).

A família Anacardiaceae foi representada nas amostras pelos tipos *Anacardium*, *Mangifera* e *Tapirira*. A recompensa floral oferecida aos visitantes na maioria das espécies dessa família é o néctar. Luz et al. (2009) encontraram pólenes de *Anacardium* e *Tapirira* na própolis vermelha do nordeste brasileiro e consideraram uma das possíveis fontes de resina para as localidades estudadas. Ressalta-se que as xantonas encontradas nos extratos de geopropolis são encontradas nas folhas de *Mangifera indica* L..

A família Asteraceae foi representada em nossas amostras pelo tipo *Vernonia*. Espécies da família Asteraceae ocorreram em várias amostras de própolis marrom do Estado do Rio de Janeiro e são muito procuradas pelas abelhas *Apis mellifera* para fornecimento de pólen e néctar (Freitas et al. 2010). As abelhas indígenas também procuram recursos nessas famílias, apesar de em menor quantidade (Barros et al., 2013; Oliveira et al., 2009; Ribeiro et al., 2016).

A família Myrtaceae representada pelos tipos *Myrcia/Psidium* e *Eucalyptus*. *Myrcia/Psidium* é considerada como uma das fontes de resina para as abelhas especialmente *Psidium guajava* L. (Oliveira & Bastos, 1998). *Eucalyptus* (Myrtaceae) é um gênero que produz uma grande quantidade de pólen e foi indicado como uma das fontes de resina para a própolis do Brasil (Freitas et al., 2010; Barros et al., 2013; Matos et al., 2014; Ribeiro et al., 2016). A família Burseraceae foi representada pelo tipo *Protium*, sendo *Protium heptaphyllum* muito utilizado pelas abelhas sem ferrão no Amazonas (Oliveira et al., 2009); Tivemos também outros tipos polínicos importantes na constituição da geopropolis de *M. fasciculata* como *Ardisia* (Mysinaceae), que é muito polinífero e cujos galhos secretam resina (Soto, 2007); O tipo *Hyptis* (Lamiaceae), que é indicada por Park et al. (2002) como uma das fontes de resina para a própolis nordestina e o tipo *Borreria verticillata* (Rubiaceae) que também foi importante no trabalho de Souza et al. (2015).

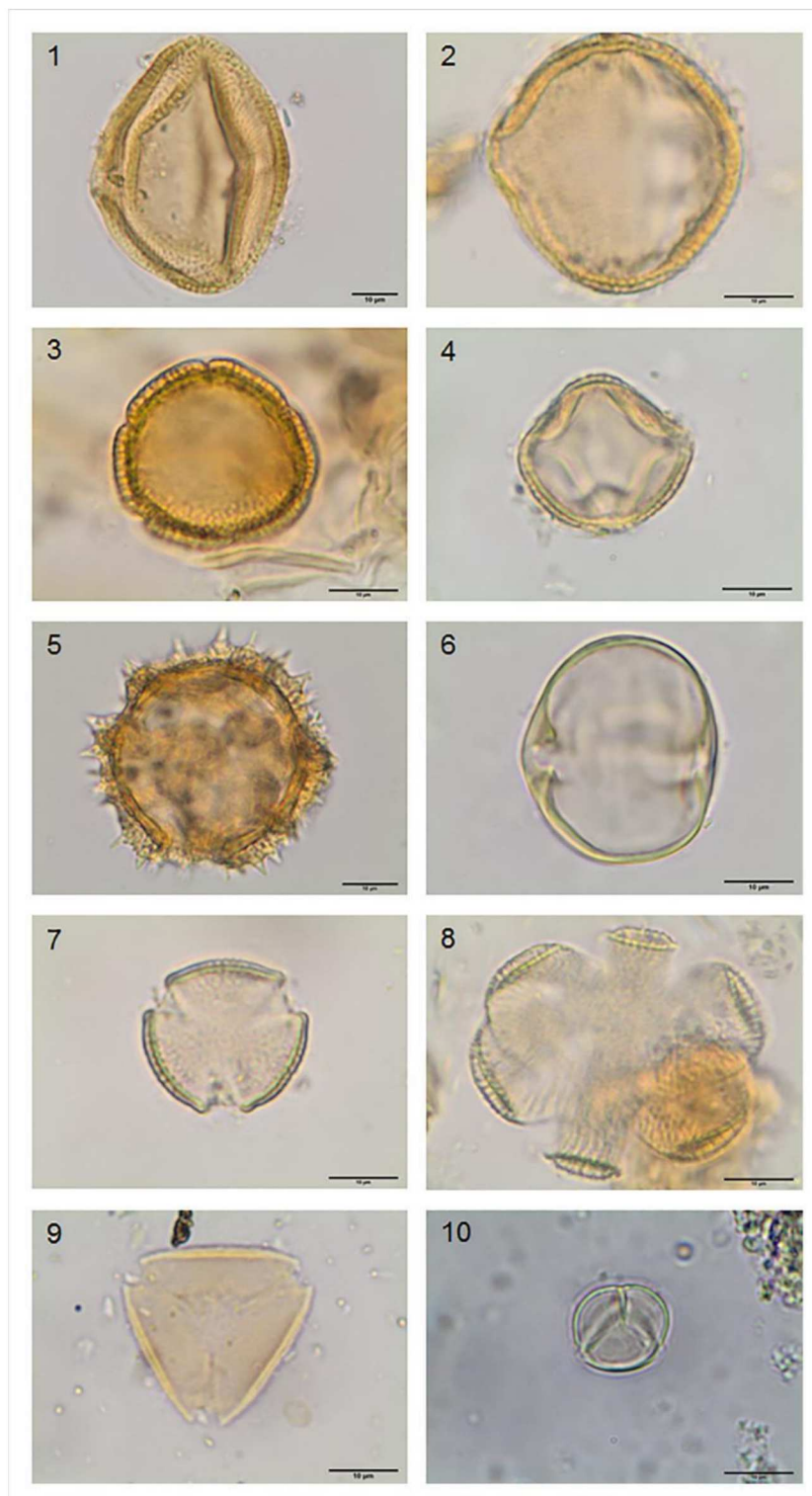


Figura 2: Fotomicrografias de grãos de pólen observados nas amostras de geoprópolis de *Melipona fasciculata* em uma região da Amazônia Maranhense, Brasil: 1-**Anacardiaceae**, *Anacardium*. 2-**Anacardiaceae**, *Mangifera*. 3-**Rubiaceae**, *Borreria verticillata*. 4-**Hypericaceae**, *Vismia*. 5-**Asteraceae**, *Vernonia*. 6-**Burseraceae**, *Protium*. 7-**Myrsinaceae**, *Ardisia*. 8-**Lamiaceae**, *Hyptis*. 9-**Myrtaceae**, *Myrcia/Psidium*. 10- **Fabaceae**, *Mimosa pudica*. Escala = 10µm.

Tabela 1: Tipos Polínicos identificados nas amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*

Tipos polínicos	GP1	GP2	GP3	GP4
ARECACEAE				
<i>Attalea speciosa</i> Mart.	1.27	4.31		
ANACARDIACEAE				
<i>Anacardium</i>		3.10		
<i>Mangifera</i>			2.23	
ASTERACEAE				
<i>Erechtites</i>		2.59	0.46	
<i>Vernonia</i>	35.72		0.69	0.45
BURSERACEAE				
<i>Protium</i>		62.17	7.20	10.22
CACTACEAE				
<i>Opuntia</i>		5.35		
CLUSIACEAE				
<i>Clusiaceae</i>			12.55	
<i>Clusia grandiflora</i> Splitg.	5.2	8.3		
<i>Symphonia globulifera</i> L.	17.70			
EUPHORBIACEAE				
<i>Acalypha</i>	11.96			
<i>Croton</i>	5.10			
FABACEAE				
<i>Acacia</i>	0.31			
<i>Anadenanthera</i>			10	
<i>Chamaecrista</i>	1.11		5.34	
<i>Machaerium</i>		1.38	0.93	
<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> Benth.		2.07		
<i>Mimosa</i> sp.			1.39	
<i>Pterocarpus</i>				1.82
<i>Schrankia</i>	3.66			
<i>Senna</i>		11.05	5.11	17.04
<i>Stryphnodendron</i>		3.28		
HYPERICACEAE				
<i>Vismia</i>		2,3		0,65
LAMIACEAE				
<i>Hyptis</i>	2.55		3.48	5.68
MALPHIGIACEAE				
<i>Byrsonima</i>	0.31			
MELASTOMATACEAE				
<i>Miconia/Tibouchina</i>				0.68
MELIACEAE				10.68
<i>Trichilia</i>				10.68
MYRTACEAE				
<i>Myrcia/Psidium</i>	14.19		2.79	5.22
MYRSINACEAE				
<i>Ardisia</i>	0,50		3,5	
ONAGRACEAE				
<i>Ludwigia</i>	1.75			
RUBIACEAE				
<i>Borreria verticillata</i> (L.) G. Mey.	4.78	2.59	3.02	23.86
<i>Declieuxia</i>			20.23	
<i>Psicotrya</i>		2.07		
RUTACEAE				
<i>Zantholylum</i>			3,52	
SOLANACEAE				
<i>Solanum</i>			1.62	13.63

Análise da Composição Química dos extratos hidroalcoólicos da geoprópolis:

Os extratos de geoprópolis foram analisadas por CLAE-UV e CL-UV-ESI-EM/EM.

Cromatogramas CLAE-UV de cada extrato estão representados na figura 3 (A-D).

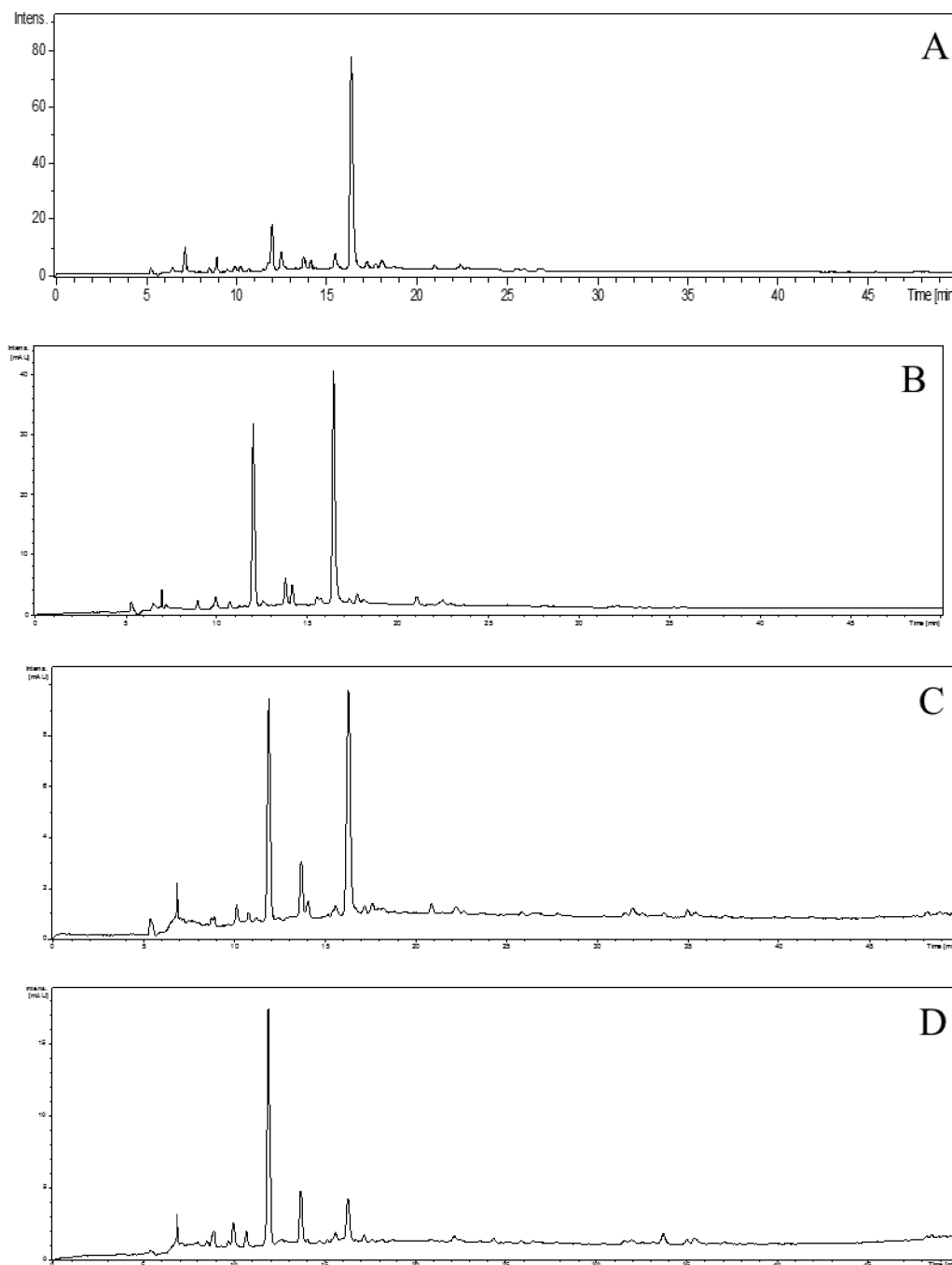


Figura 3: Cromatogramas por CLAE a 281 nm dos extratos hidroalcoolicos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EGP1 (A), EGP2 (B), EGP3 (C), EGP4 (D)).

Os cromatogramas obtidos por CLAE/UV-vis dos 04 extratos (281 nm) revelaram similaridade na composição química. As tabelas 2-5 demonstram sumariamente informações das análises HPLC-DAD-ESI-MS/MS dos 04 extratos como o peso molecular, ion molecular[M – H]⁻, os principais fragmentos e a identificação dos compostos. Os constituintes foram tentativamente identificados pela similaridade de seus padrões de fragmentação com constituintes descritos na literatura.

Tabela 2: Compostos tentativamente identificados no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EPG1) por CL-UV-ESI-EM/EM.

Pico	MM	[M-H] ⁻ m/z	Principais íons EM ² (m/z)	Composto identificado
1	192	191	173; 85	Ácido quínico
2	576	575	465; 423; 303; 261; 235; 193	Maclurina mono-O-galoil-glicosídeo
3	408	407	287	Iriflofenona-3-C-glicosídeo
4	560	559	407; 317; 287; 245;	iriflofenona mono-O-galoilglicosídeo
5	464	463	455, 417, 311, 173	Miricetina-3-O-ramnosídeo
6	574	573	531; 421; 301	Galato de mangiferina
7	844	843	403, 331, 301	Mangiferina (dímero [2M – H] ⁻)
8	436	435	315	Homomangiferina
9	422	421	403, 331, 301, 259	Mangiferina
10	542	541	403, 283	Foliamangiferosídeo A2

M/M= peso molecular; [M-H]⁻ m/z = ion molecular

Tabela 3: Compostos tentativamente identificados no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EPG2) por CL-UV-ESI-EM/EM.

Pico	MM	[M-H] ⁻ m/z	Principais íons EM ² (m/z)	Composto identificado
1	490	489	443, 421, 323, 301	Derivado de mangiferina
2	574	573	531; 421; 301	Galato de mangiferina
3	422	843	403, 331, 301	Mangiferina (dímero [2M – H] ⁻)
4	436	435	315	Homomangiferina
5	542	541	403, 283	Foliamangiferosídeo A2
6	794	793	775, 707, 639, 571, 503, 485, 453	Desconhecido

M/M= peso molecular; [M-H]⁻ m/z = ion molecular

Tabela 4: Compostos tentativamente identificados no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EPG3) por CL-UV-ESI-EM/EM.

Pico	MM	[M-H] ⁻ m/z	Principais íons EM ² (m/z)	Composto identificado
1	480	479	421, 283	Derivado de mangiferina
2	422	421	403, 331, 301	Mangiferina
3	504	503	435	Desconhecido
4	542	541	403, 283	Foliamangiferosídeo A2
5	844	843	775, 707, 639, 571, 503	Desconhecido
6	940	939	895, 877, 808, 745	Desconhecido PENTA GALOIL (TANINOS)
7	899	898	836, 767, 704	Desconhecido

M/M= peso molecular; [M-H]⁻ m/z = ion molecular

Tabela 5: Compostos tentativamente identificados no extrato hidroalcoólico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* (EPG4) por CL-UV-ESI-EM/EM.

Pico	MM	[M-H] ⁻ m/z	Principais íons EM ² (m/z)	Composto identificado
1	422	421	403, 331, 301	Mangiferina
2	844	843	775, 707, 639, 571, 503, 485, 453	Desconhecido
3	940	939	877, 808, 745	Desconhecido
4	975	974	939, 907, 767	Desconhecido

M/M= peso molecular; [M-H]⁻ m/z = ion molecular

Nesse estudo a análise dos extratos hidroalcoólicos de geoprópolis pela técnica de CL-ESI-EM/EM revelou a presença de vários compostos, que foram tentativamente caracterizados como ácido quínico, derivados de benzofenonas, flavonoides O-glicosilados e xantonas.

No extrato EGP1 foram identificados 10 compostos. O composto 1, apresentou [M – H]⁻ em 191 m/z e fragmentação em 173 e 85 m/z, equivale ao ácido quínico (Catarino et al., 2015; Abu-Reidah et al., 2015). O composto 2 exibe [M – H]⁻ em 575 m/z com uma perda de 272 Da, resultando em um pico base em 303 m/z. A perda de 272 Da ([M – H – 120 – 152]) indicou a presença de uma galoil benzofenona, identificada como Maclurina mono-O-galoil-glicosídeo como descrito por Berardini et al. (2004) e Barreto et al. (2008).

O composto 3 mostrou [M – H]⁻ em 407 m/z, e pico base em 287 m/z, causada pela perda de fragmentos de 120 Da do açúcar foi identificado como iriflofenona-3-C-glicosídeo, como benzofenona com base em dados da literatura (Barreto et al., 2008; Beelders et al., 2014).

O composto 4 apresentou [M – H]⁻ em 559 m/z, com fragmentos em 407 e 317, 287, 245 m/z. Os fragmentos em 407 m/z corresponde a perda de galoil (M – H – 152 Da). Os íons

em 317 e 287 m/z representam a perda de 90 e 120 Da da porção glicosídica. O que levou a tentativa de identificação como iriflofenona mono-O-galoilglicosídeo (Barreto et al., 2008; Zhang et al., 2013).

O composto 5 mostrou $[M - H]^-$ em 463 m/z , produzindo fragmento de 317 m/z (miricetina), tratando-se de um flavonoide O-glicosilado sendo tentativamente identificado como miricetina-3-O-ramnosídeo (Simirgiotis et al., 2013).

Composto 6, exibiu $[M - H]^-$ em m/z 573, a fragmentação resultou na perda de 152 Da, indicativo da presença do grupo galoil. O que sugere a sua identificação como galato de mangiferina (Schieber et al., 2003; Berardini et al., 2004).

O composto 7 foi detectado no tempo de retenção de 17 minutos com a formação de um dímero de mangiferina ($[2M - H]^-$), com 843 m/z , correspondendo a duas moléculas de mangiferina (421 m/z) (Barreto et al., 2008).

O padrão de fragmentação do composto 8 é muito semelhante ao da mangiferina, e indicou a presença de um grupo metil extra, logo este composto foi tentativamente identificado como homomangiferina, mas a localização exata do grupo metil requer elucidação por Ressonância Magnética Nuclear (Barreto et al., 2008).

A análise do composto 9 apresentou $[M - H]^-$ em 421 m/z e um padrão de fragmentação de C-glicosídeo com 301 m/z ($M - H - 120$ Da) e 331 m/z ($M - H - 90$ Da), o que sugere ser a xantona mangiferina (Beelders et al., 2014).

O composto 10, com $[M - H]^-$ 541 m/z , apresentou a presença do grupo p-hidroxibenzoil (perda de 120 e 138 Da), sendo tentativamente identificado como foliamangiferosídeo A2 (Zhang et al., 2013).

A análise dos extratos EGP2, EGP3 e EGP4 resultou na identificação de mangiferina e derivados. A análise por CLAE/EM/EM permitiu a identificação de inúmeras substâncias, que foram similares entre as amostras. Mangiferina esteve presente em todas os extratos. Em mangueira é uma xantona, um dos constituintes fenólicos majoritários, em espécies do gênero

Mangifera: *M. zeylanica* (Richardson, 1983), *M. persiciformis* (Nong et al., 2005), *M. odorata* (Li et al., 2007a) tanto nas folhas, na casca do caule, nos frutos e raízes (Richardson, 1983). A mangiferina demonstra atividades farmacológicas como Neuroprotetora (Amazzal et al., 2007; Gottlieb et al., 2006), Cardioprotetora (Nair & Shyamala, 2006; Prabhu et al., 2006), Hepatoprotetora (Sánchez et al., 2000), Anticâncer (Jagetia & Venkatasubbaiah, 2006; Jagetia & Baliga, 2005), Antioxidante (Leiro et al., 2003; Stoilova et al., 2008; Andreu et al., 2005), Antiinflamatória e imunomoduladora (Leiro et al., 2004; Sarkar et al., 2004; Leiro et al., 2003; Muruganandan et al., 2005), antidiabética e antiobesidade (Huang et al., 2006; Li et al., 2004; Ichiki et al., 2007), gastroprotetora (Carvalho et al., 2007), antineuraminidase (Li et al., 2007a), nefroprotetora (Muruganandan et al., 2002), analgésica (Dar et al., 2005), antiosteopose (Qin et al., 2008), antidiarreica (Perrucci et al., 2006), anti-herpes (Zheng & Lu, 1990), anti-HIV (Guha et al., 1996), antihelmíntica e antialérgica (Garcia et al., 2003).

Segundo Freitas et al. (2008), a composição química da própolis de abelhas sem ferrão varia com a localização das espécies de abelhas, e também com a disponibilidade da flora como fator mais importante para sua composição. Logo, é importante ressaltar que a diversidade de compostos observados corrobora com dados da literatura (Maróstica Jr. et al., 2008; Cueto et al., 2011; Morlock et al., 2014). Os compostos identificados são descritos como importantes na defesa ao dano oxidativo de moléculas biológicas e com capacidade para o tratamento de patologias (Tao et al., 2014).

CONCLUSÕES:

A análise dos grãos de pólen e outros elementos que ocorrem na própolis e geoprópolis são úteis aos interesses comerciais e acadêmicos, pois é possível identificar a região fitogeográfica onde estes produtos foram elaborados. O conhecimento da composição química da geoprópolis aliada a análise palinológica contribuem para estabelecer dados de identidade, controle de qualidade e padronização do produto. As geoprópolis de *M. fasciculata* analisados

mostraram conter variedade de derivados compostos polifenólicos, como flavonoides, benzofenonas e xantonas, indicando uma correlação química com as espécies botânicas identificadas no pólen.

AGRADECIMENTOS:

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida à primeira autora e financiamento do projeto. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelas bolsas de Produtividade em Pesquisa a segunda e terceira autoras respectivamente. Ao Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo pelo uso das instalações e equipamentos do Núcleo de Pesquisa em Palinologia. A equipe do Laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal do Maranhão pela identificação e análises realizadas. A professora Dr^a. Eleuza Gomes Tenório e a Universidade Estadual do Maranhão pela ajuda em algumas coletas e na concretização de etapas do projeto. Aos meliponicultores por cederem o meliponário e umas caixas de abelhas para realização do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Abreu BVB 2011. Prospeção química de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith. São Luis, 53p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão.

Abu-Reidah IM, Ali-Shtayeh MS, Jamous RM, Arráez-Román D & Segura-Carretero A 2015. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. Food chemistry, 166, 179-191.

Alencar SM, Aguiar CL, Guzmán JP, Park YK 2005. Composição química de *Baccharis dracunculifolia*. Ciência Rural 35: 909-915.

Alves de Souza S, Camara CA, Da Silva MSE, & Silva TMS 2013. Composition and antioxidant activity of geopropolis collected by *Melipona subnitida* (Jandaira) bees. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

Amazzal L, Lapôtre A, Quignon F, Bagrel D 2007. Mangiferin protects against 1-methyl-4-phenylpyridinium toxicity mediated by oxidative stress in N2A cells. Neuroscience Letters. Limerick, v. 418, p. 159-164.

Andreu GP, Delgado R, Velho JA, Curti C, Vercesi AE 2005. Iron complexing activity of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, inhibits mitochondrial lipid peroxidation induced by Fe²⁺-citrate. European Journal of Pharmacology, Amsterdam, v. 513, p. 47– 55.

Araújo MJAM, Búfalo MC, Conti BJ, Fernandes Jr A, Trusheva B, Bankova V & Sforcin JM 2015. The chemical composition and pharmacological activities of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in Northeast Brazil. Journal of Molecular Pathophysiology, 12-20.

Barth OM 1998. Pollen analysis of Brazilian propolis. Grana, 37,97-101.

Barth OM, Dutra VML, JUSTO R L 1999. Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil Meridional. Ciência Rural, Santa Maria, 29, 663-667.

Barth OM, Luz, CFP 2003. Palynological analysis of Brazilian geoprópolis sediments. Grana, 42, 121-127.

Barth OM, Freitas AS 2015. Palynology as a Tool to Distinguish between Propolis and Geopropolis: Southern Brazilian Samples. Open Access Library Journal, 2: e2217. Retirado de: <http://dx.doi.org/10.4236/oalib.1102217>. Acesso em janeiro de 2017.

Bartolomeu AR, Frión-Herrera Y, da Silva LM, Romagnoli GG, de Oliveira DE & Sforcin JM 2016. 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.

Barros MHMR, Luz CFP, Albuquerque PMC 2013. Pollen analysis of geopropolis of *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854 (Meliponini, Apidae, Hymenoptera) in areas of Restinga, Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. Grana, 52 (22), 81-92.

Barreto, JC, Trevisan MT, Hull WE, Erben G, de Brito ES, Pfundstein, B & Owen RW 2008. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). Journal of agricultural and food chemistry, 56(14), 5599-5610.

Batista MCA, Abreu BVDB, Dutra RP, Cunha MS, Amaral FMMD, Torres, LMB, Ribeiro MNDS 2016. Chemical composition and antioxidant activity of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* (Meliponinae) in flooded fields and cerrado areas of Maranhão State, northeastern Brazil. Acta Amazonica, 46(3), 315-322.

Beelders T, De Beer D, Stander MA & Joubert, E 2014. Comprehensive phenolic profiling of *Cyclopia genistoides* (L.) Vent. by LC-DAD-MS and-MS/MS reveals novel xanthone and benzophenone constituents. Molecules, 19(8), 11760-11790.

Bennett G J, Lee HH 1989. Xanthonenes from Guttiferae. Phytochemistry, Oxford, v. 28, p. 967-98.

Berardini N, Carle R & Schieber A 2004. Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. Rapid communications in mass spectrometry, 18(19), 2208-2216.

Carreira LMM 1976. Morfologia polínica de plantas lenhosas da Campina. Acta Amazonica 6: 247-269.

Carreira LMM 1996. Catálogo de pólen das leguminosas da Amazônia brasileira. Museu Goeldi; Belém, Pará, Brasil: Museu Goeldi.

Carreira LMM, Barth OM 2003. Atlas de Pólen da vegetação de canga da Serra de Carajás (Pará, Brasil). Museu Paraense Emílio Goeldi.

Carvalho ACS, Souza AL, Guedes MM, Trevisan MTS, Lima AF, Santos FA, Rao VSN 2007. Gastroprotective effect of mangiferin, a xanthonoid from *Mangifera indica*, against gastric injury induced by ethanol and indomethacin in rodents. *Planta Medica*, Stuttgart, v. 73, p. 1372-1376.

Catarino MD, Silva AM, Saraiva SC, Sobral AJ & Cardoso SM 2015. Characterization of phenolic constituents and evaluation of antioxidant properties of leaves and stems of *Eriocephalus africanus*. *Arabian Journal of Chemistry*.

Cinegaglia N C, Bersano PRO, Búfalo MC & Sforcin JM 2013. Cytotoxic action of Brazilian propolis in vitro on canine osteosarcoma cells. *Phytotherapy Research*, 27(9), 1277-1281.

Cueto AP, Alves SH, Weiblen MPR, Kubiça TF, Lovato LT 2011. Atividade antiviral do extrato de própolis contra o calicivírus felino, adenovírus canino 2 e vírus da diarreia viral bovina. *Ciência Rural*, 41: 1800-1806.

Cunha MG, Franchin M, Galvão L, de Ruiz A, de Carvalho JE, Ikegaki M & Rosalen PL 2013. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geopropolis. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 23.

Cunha MG, Rosalen PL, Franchin M, de Alencar SM, Ikegaki M, Ransom T & Beutler JA 2016. Antiproliferative constituents of geopropolis from the bee *Melipona scutellaris*. *Planta medica*, 82(03), 190-194.

Dar A, Faizi S, Naovi S, Roome T, Zikr-ur-rehman S, Ali M, Firdous S, Moin ST 2005. Analgesic and antioxidant activity of mangiferin and its derivatives: the structure activity relationship. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Tokyo, v. 28, p. 596-600.

Duailibe SAC 2004. Efeito do extrato de própolis na contagem de *Streptococcus mutans* da cavidade oral. São Luís, 73p. Dissertação de Mestrado - Programa de PósGraduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão.

Dutra RP, Nogueira AMC, Marques RRDO, Costa MCP & Ribeiro MNS 2008. Pharmacognostic evaluation of geopropolis of *Melipona fasciculata* Smith from Baixada Maranhense, Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(4), 557-562.

Dutra RP, Abreu, BVDB, Cunha MS, Batista MCA, Torres LMB, Nascimento FRF & Guerra RNM 2014. Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(12), 2549-2557.

Erdtman G 1960. The acetolysis method. Svensk Botanisk Tidskrift, 54: 561-564.

Freitas MO, Ponte FA, Lima MAS, Silveira ER 2008. Flavonoids and triterpenes from the nest of the stingless bee *Trigona spinipes*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 19 (3) 532-535.

Freitas AS, Barth OM, Luz CFP 2010. Própolis marrom da vertente atlântica do Estado do Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação palinológica. Revista Brasileira de Botânica, 33 (2), 341-352.

Garcia D, Escalante M, Delgado R, Ubeira TM, Leiro J 2003. Antihelminthic and antiallergic activities of *Mangifera indica* L. stem bark components Vimang and mangiferin. Phytotherapy Research, London, v. 17, p. 1203-1208.

Gottlieb M, Leal-Campanario R, Campos-Esparza MR, Sánchezgómez MV, Alberdi E, Arranz A, Delgado-Garcia JM, Gruart A, Matute C 2006. Neuroprotection by two polyphenols following excitotoxicity and experimental ischemia. Neurobiology of Disease, San Diego, v. 23, p. 374-386.

Ghisalberti E L 1979. Propolis: a review. Bee world, 60(2), 59-84.

Greenway W, Scaysbrook T, Whatley FR 1990. The composition and plant origins of propolis: a report of work at Oxford. Bee World, v.71, p.107-118.

Guibu LS, Ramalho M, Kleinert-Giovannini A, Imperatriz-Fonseca VL 1988. Exploração dos recursos florais por colônias de *Melipona quadrifasciata* (Apidae, Meliponinae). Revista Brasileira de Biologia, 48, 299-305.

Gua S, Ghosal S, Chatopadhyay U 1996. Antitumor, immunomodulatory and anti-HIV effect of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone. Chemotherapy, Basel, v. 42, p. 443-451.

Huang THW, Peng G, Li GQ, Yamahara J, Roufogalis BD, Li Y 2006. Salacia oblonga root improves postprandial hyperlipidemia and hepatic steatosis in Zucker diabetic fatty rats: activation of PPAR- α . Toxicology and Applied Pharmacology, San Diego, v. 210, p. 225-235.

Ichiki, H, Takeda O, Sakakibara I, Terabayashi S, Takeda S, Susaki H 2007. Inhibitory effects of compounds from *Anemarrhenae Rhizoma* on α -glucosidase and aldose reductase and its contents by drying conditions. Journal of Natural Medicines, v. 61, p. 146-153.

Jagetia GC, Baliga MS 2005. Radioprotection by mangiferin in DBAxC57L mice: a preliminary study. Phytomedicine, Jena, v. 12, p. 209-15.

Jagetia GC, Venkatasubbaiah VA 2006. Mangiferin protects human peripheral blood lymphocytes against g-radiation-induced DNA strand breaks: a fluorescence analysis of DNA unwinding assay. Nutrition Research, Tarrytown, v. 26, p. 303-311.

Kisser J 1935. Bemerkungen Zum Einschluss in glycerim Z. Hiss. 51 p.

Kerr WE, Absy ML, Marques-Souza AC 1986. Espécies nectaríferas e poliníferas utilizadas pela abelha *Melipona crassipes fasciculata* (Meliponinae, Apidae) no Maranhão. Acta Amazônica, 16/17, 145- 156.

Kerr WE 1987. Sex determination in bees. XXI. Number of XO-heteroalleles in a natural population of *Melipona compressipes fasciculata*. Insects Sociaux, 34 (4), 274– 279.

Leal A, Berrío JC, Raimúndez E, Bilbao B 2011. A pollen atlas of premontane woody and herbaceous communities from the upland savannas of Guayana, Venezuela. Palynology, 35(2), 226-266.

Liberio SA, Pereira ALA, Dutra RP, Reis AS, Araújo MJA, Mattar NS & Monteiro-Neto, V 2011. 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), 108.

Li X, Deng J, Qin Z 2007. Mangiferin-berberine compound for the manufacture of eye drops, medicine for gynecology, reducing blood sugar, and curing hepatitis, comprises predetermined amounts of mangiferin and berberine. CN. n. 101066275- A. 12 Jun. 2007. Disponível em: http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&qid=5&SID=N1BND1K8bC KhCGgGgkD&page=1&doc=1&colname=DII. Acesso em abril de 2017.

Li YJ, Peng G, Li Q, Weng S, Huang THW, RoufogaliS BD, Yamahara, J 2004. Salacia oblonga improves cardiac fibrosis and inhibits postprandial hyperglycemia in obese zucker rats. Life Sciences, Elmsford, v. 75, p. 1735–1746.

Li X, Ohtsuki T, Shindo S, Sato M, Koyano T, Preeprames S, Kowithayakom T, Ishibashi M 2007a. Mangiferin identified in a screening study guided by neuraminidase inhibitory activity. Planta Medica, Stuttgart, v. 73, p. 1195-1196.

Leiro J, Álvarez E, Arranz JA, Siso IG, Orallo F 2003. In vitro effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumour necrosis factor- α and transforming growth factor- β genes. Biochemical Pharmacology, New York, v. 65, p. 1361–1371.

Leiro J, Arranz JA, Yáñez M, Ubeira FM, Sanmartín ML, Orallo F 2004. Expression profiles of genes involved in the mouse nuclear factor- κ B signal transduction pathway are modulated by mangiferin. International Immunopharmacology, Amsterdam, v. 4, p. 763–778.

Luz CFP, Barth OM, Bacha Junior GL 2009. Análise palinológica de própolis vermelha do Brasil: subsídios para a certificação de sua origem botânica e geográfica. Mensagem Doce, 102, 10-15.

Manrique A & Santana W 2008. Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. de Brasil y Venezuela. Zootecnia Trop, 26(2), 157-166.

Marcucci MC 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, 26(2), 83-99.

Marcucci MC 1996. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. *Química Nova*, 19(5), 529-536.

Matos VR, Alencar SM, Santos FA 2014. Pollen types and levels of total phenolic compounds in propolis produced by *Apis mellifera* L. (Apidae) in an area of the Semiarid Region of Bahia, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86 (1), 407-418.

Maróstica Jr MR, Dausch A, Moraes CS, Queiroga CL, Pastore GM, Parki YK 2008. Comparison of volatile and polyphenolic compounds in Brazilian green propolis and its botanical origin *Baccharis dracunculifolia*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28: 178-181.

Ministério do Trabalho e Emprego 2012. Identidade coletiva e organização produtiva dos apicultores do alto turi maranhense: o caso da Turimel.

Moura CO, Absy ML, Santos FAR, MarqueS-Souza AC 2004. Morfologia polínica de espécies de várzea e de igapó da Amazônia Central. *Acta Amazônica*, 34, 15-19.

Morlock GE, Ristivojevic P, Chernetsova ES 2014. Combined multivariate data analysis of high-performance thin-layer chromatography fingerprints and direct analysis in real time mass spectra for profiling of natural products like propolis. *Journal of Chromatography A*, 1328:104-12.

Müller I 1947. Die pollen analttische nachweis der menschlichen Besiedlung im Federsee-und bodenseegebiet. *Planta*. 36p.

Muniz FH 2011. Efeito do manejo florestal sobre a composição florística e fitossociologia da floresta na Amazônia maranhense. In: *Amazônia Maranhense: Diversidade e Conservação* – Belém: MPEG, 328.

Muruganandan S, Gupta S, Kataria M, Lal J, Gupta PK 2002. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats. *Toxicology, Limerick*, v. 176, p.165-173.

Muruganandan S, Lal J, Gupta PK 2005. Immunotherapeutic effects of mangiferin mediated by the inhibition of oxidative stress to activated lymphocytes, neutrophils and macrophages. *Toxicology, Limerick*, v. 215, p. 57-68.

Nair PS, Shyamala CSD 2006. Efficacy of mangiferin on serum and heart tissue lipids in rats subjected tp isoproterenol induced cardiotoxicity. *Toxicology, Limerick*, v. 228, p. 135-139.

Nogueira-Neto P 1962. The scutellum nest structure of *Trigona* (*Trigona*) *spinipes* Fab.(Hymenoptera: Apidae). *Journal of the New York Entomological Society*, 239-264.

Nogueira-Neto P 1997. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. São Paulo, Nogueirapis.

Nong C, He W, Fleming D, Pan L, Huang H 2005. Capillary electrophoresis analysis of mangiferin extracted from *Mangifera indica* L. bark and *Mangifera persiciformis* C.Y. Wu et T.L. Ming leaves. *Journal of Chromatography B, Amsterdam*, v. 826, p. 226–231.

Oliveira VC, Bastos EM 1998. Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) visando a identificação da origem botânica da própolis. *Acta Botânica Brasilica*, 12,3, 431-439.

Oliveira FPM, Absy ML, Miranda IS 2009. Recurso polínico coletado por abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponinae) em um fragmento de floresta na região de Manaus-Amazonas. *Acta Amazonica*, 39, 3, 505-518.

Palacios CR, Ludlw WR, Villanueva GR 1991. Flora palinologica de la reserva de la biosfera de Sian Ka'An Quintana Rôo, México. Chetumal: Centro de Investigaciones Quintana Roo.

Park YK, Alencar SM, Scamparine ARP, Aguiar CL 2002. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. *Ciência Rural*, 2, 997-1003.

Perrucci S, Fichi G, Buggiani C, Rossi G, Flamini G 2006. Efficacy of mangiferin against *Cryptosporidium parvum* in a neonatal mouse model. *Parasitology Research, Berlin*, v. 99, 184-188.

Prabhu S, Jainu M, Sabitha KE, Shyamala CSD 2006. Role of mangiferin on biochemical alterations and antioxidant status in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Amsterdam, v. 107, p. 126-133.

Popova MP, Bankova VS, Bogdanov S, Tsvetkova I, Naydenski C, Marcuzzan GL & Sabatini, AG 2007. Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. *Apidologie*, 38(3), 306-306.

Qin L, Han T, Zhang Q, Cao D, Niann H, Rahman K, Zheng H 2008. Antiosteoporotic chemical constituents from Er-Xian Decoction, a traditional Chinese herbal formula. *Journal of Ethnopharmacology*, Amsterdam, v. 118, p. 271-279.

Ramalho M, Kleinert-Giovannini A, Imperatriz-Fonseca VL 1989. Utilization of floral resources by species of *Melipona* (Apidae, Meliponinae): floral preferences. *Apidologie*, 20, 185-195.

Ramalho M 2004. Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. *Acta botânica brasílica*, 18, 1, 37-47.

Ramalho M, Silva MD, Carvalho CAL 2007. Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera, Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae), no domínio Tropical Atlântico. *Neotropical Entomology*, 36, 38-45.

Roubik D W, Moreno JE 1991. Pollen and Spores of Barro Colorado. New York: Missouri Botanical Garden.

Ribeiro-Junior JA, Franchin M, Cavallini ME, Denny C, Alencar SMD, Ikegaki M & Rosalen PL 2015. Gastroprotective effect of geopropolis from *Melipona scutellaris* is dependent on production of nitric oxide and prostaglandin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Ribeiro MHM, De Albuquerque PMC, Da Luz CFP 2016. 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*, 1-18.

Richardson PM 1983. The taxonomic significance of C-glycosylxanthenes in flowering plants. *Biochemical Systematics and Ecology*, Oxford, v. 11, p. 371-375.

Santos FAR 2011. Identificação botânica do pólen apícola. *Magistra* 23: 5-9.

Sánchez GM, Re L, Giuliani A, Nunez-Selles AJ, Davison GP & Leon-Fernandez OS 2000. Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. *Pharmacological Research*, 42(6), 565-573.

Sarkar A, Sreenivasan Y, Ramesh GT, Manna SK 2004. α -D-Glucoside suppresses tumor necrosis factor-induced activation of nuclear transcription factor K β but potentiates apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 279, p. 33768-33781.

Schieber A, Berardini N & Carle R 2003. Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") peels by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 5006-5011.

Silva ECCD, Muniz MP, Nunomura RDCS, Nunomura SM & Zilse GAC 2013. Phenolic constituents and antioxidant activity of geopropolis from two species of amazonian stingless bees. *Química Nova*, 36(5), 628-633.

Silva SS, Miranda MM, Costa IN, Watanabe MAE, Pavanelli WR, Felipe I & Conchon-Costa I 2016. Atividade leishmanicida de extrato hidroalcoólico de própolis brasileira em *Leishmania amazonensis*. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 36(2), 25-34.

Simirgiotis MJ, Schmeda-Hirschmann G, Bórquez J & Kennelly EJ 2013. The *Passiflora tripartita* (Banana Passion) Fruit: A Source of bioactive flavonoid C-glycosides isolated by HSCCC and characterized by HPLC–DAD–ESI/MS/MS. *Molecules*, 18(2), 1672-1692.

Souza HRD, Corrêa AMDS, Cruz-Barros MAVD, Albuquerque PMCD 2015. Pollen spectrum of *Scaptotrigona* aff. *postica* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) propolis from Barra do Corda, MA, Brazil. *Acta Amazonica*, 45(3), 307-316.

Soto MAV 2007. Recursos polínicos utilizados por la abeja nativa Shuruya (*Scaptotrigona pectoralis*) (Apidae: Meliponini) em um meliponario de La Parte Baja de Los Cipresales em Pachalum, Quiché', durante la epoca seca y lluviosa. Tese de Doutorado, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Stoilova I, Jirovetz L, Stoyanova A 2008. Antioxidant activity of the polyphenol mangiferin. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, Ourense, v. 7, p. 2706-2716.

Tao Y, Wang D, Hu Y, Huang Y, Yu Y, Wang D 2014. The immunological enhancement activity of propolis flavonoids liposome in vitro and in vivo. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014: 1-8.

Velásquez Ruiz CA 1999. Atlas palinológico de la flora vascular paramuna de Colombia: Angiospermae.

Zhang B, Fang J, Chen Y 2013. Antioxidant effect of mangiferin and its potential to be a cancer chemoprevention agent. Letters in Drug Design & Discovery. v. 10, n. 3, p. 239 – 244.

Zheng MS, Lu ZY 1990. Antiviral effect of mangiferin and isomangiferin on herpes simplex virus. Chinese Medical Journal, Beijing, v. 103, p. 160-165.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Os resultados apresentados nesta tese no capítulo 1 em relação às possíveis plantas fornecedoras de resina para a geoprópolis de abelhas sem ferrão no Estado do Maranhão reconhecidas através dos tipos polínicos das amostras aqui analisadas, destacam-se as seguintes: Tipo *Ardisia* (Myrsinaceae), *Hyptis* (Lamiaceae), *Vismia* (Hypericaceae), *Caryocar* (Caryocaraceae), *Myrcia/Psidium* (Myrtaceae), *Eupatorium* (Asteraceae), *Eucalyptus* (Myrtaceae), *Protium* (Burseraceae), *Baccharis* (Asteraceae), *Anacardium*, *Tapirira*, *Spondias* (Anacardiaceae), *Clusia*, *Clusia grandiflora*, *Symphonia globulifera* e *Platonia insignis* (Clusiaceae). As análises quantitativas e qualitativas dos tipos polínicos encontrados nas amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *Melipona subnitida*, permitiram caracterizar geograficamente as amostras associado ao conhecimento sobre a flora local. Além disso, forneceram subsídios para se estudar as possíveis espécies vegetais fornecedoras de resina para essas espécies de abelhas em ecossistema de floresta amazônica, ampliando os conhecimentos científicos sobre a geoprópolis do Brasil.

No capítulo 2 nossos dados indicam que a geoprópolis de *M. fasciculata* analisados mostrou uma variedade de compostos fenólicos, em comparação com as diversas funções descritas na literatura para estes compostos, indicando que há um grande potencial farmacológico nessa matéria-prima, o que fornecem mais evidências de que a geoprópolis é uma rica fonte de compostos bioativos com potencial para a saúde.

No capítulo 3 as amostras analisadas de geoprópolis apresentaram valores de polifenóis semelhantes aos de própolis de *Apis mellifera*, demonstrando a potencialidade do produto. Os teores de fenóis e flavonoides dos extratos hidroalcoólicos de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata*, *M. seminigra* e *M. subnitida*, permitiu demonstrar a caracterização química do produto, base para estabelecer um perfil de garantia de qualidade para o mesmo. Os dados obtidos neste estudo ressaltam a importância do controle de qualidade e contribuem para a caracterização da geoprópolis na região da Amazônia Maranhense. Dessa forma o estudo palinológico da geoprópolis auxilia na correlação dos resultados com outras ferramentas analíticas como, por exemplo, a físico-química.

ANEXOS

E-mail de confirmação de submissão do artigo 1

ESCREVER

Entrada

Com estrela

Enviados

Rascunhos

Mais ▾

M

Monique ▾

+

Nenhum bate-papo recente

Iniciar um novo

Mar 11, 2017

Dear Ms Ribeiro,

Your submission entitled "Palynology as a tool for distinguishing geopolis samples from Melipona species in the Maranhense Amazon, Brazil." has been received by journal Journal of Apicultural Research

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author. The URL is <http://tjar.edmgr.com/>.

Please verify the following information is accurate:

Additional Information

1. Monique Martins Ribeiro, Ms

Question	Response
Has this manuscript been submitted previously to this journal?	No
Are you willing to pay the journal's fee for colour print reproduction? (Please check the Instructions for Authors, which can be reached via the 'Instructions and Forms' link at the top right of this page, for details.)	No
Confirm that the manuscript has been submitted solely to this journal and is not published, in press, or submitted elsewhere.	Yes
Confirm that all the research meets the ethical guidelines, including adherence to the legal requirements of the study country.	Yes
Do you have any conflict of interest? Please click here for more information about disclosing a conflict of interest.	No
Confirm that you have seen, read and understood the publisher guidelines on copyright and author rights.	Yes
Number of figures	5
Number of colour figures (For online publication only)	0