

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ARTES, CIÊNCIAS E HUMANIDADES  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SUSTENTABILIDADE

WENDELL SAWADA SANCHES

**Variação regional da composição e atividade antibacteriana da própolis de  
*Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**

São Paulo

2022

WENDELL SAWADA SANCHES

**Variação regional da composição e atividade antibacteriana da própolis de  
*Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade.

Área de Concentração:

Ciência e Tecnologia Ambiental

Orientador:

Prof. Dr. Tiago Maurício Franco

São Paulo  
2022

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

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Escola de Artes, Ciências e Humanidades,  
com os dados inseridos pelo(a) autor(a)  
Brenda Fontes Malheiros de Castro CRB 8-7012; Sandra Tokarevicz CRB 8-4936

Sawada Sanches, Wendell  
Variação regional da composição e atividade  
antibacteriana da própolis de *Melipona*  
*quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) /  
Wendell Sawada Sanches; orientador, Tiago Mauricio  
Francoy. -- São Paulo, 2022.  
54 p: il.

Dissertacao (Mestrado em Ciências) - Programa de  
Pós-Graduação em Sustentabilidade, Escola de Artes,  
Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo,  
2022.  
Versão corrigida

1. Propolis. 2. Geopropolis. 3. Antibacteriana.  
4. *Melipona quadrifasciata*. 5. Mandaçaia. I.  
Francoy, Tiago Mauricio, orient. II. Título.

Nome: SANCHES, Wendell Sawada

Título: Variação regional da composição e atividade antibacteriana da própolis de *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)

Dissertação apresentada à Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós-graduação em Sustentabilidade.

Área de Concentração:

Ciência e Tecnologia Ambiental

Aprovado em: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

**Banca Examinadora**

Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____
Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____
Prof. Dr.	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____

*Dedico este trabalho aos meus pais pela doação incondicional de seu tempo de vida na  
minha formação como indivíduo.*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, ao meu amigo e orientador, Prof. Dr. Tiago Maurício Franco, pela oportunidade, acolhimento, ensinamentos, todo o auxílio, principalmente na reta final. Com certeza este trabalho não teria êxito sem sua participação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade da Escola de Artes Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo.

À minha esposa Renata pelo incentivo e paciência.

Ao grande amigo Rodrigo Paiva pelas horas de discussões que tanto engrandeceram este trabalho.

Aos amigos do laboratório que me auxiliaram no desenvolvimento dos trabalhos.

Aos colegas do Laboratório de Química de Produtos Naturais que cederam espaço, equipamentos e tempo em especial à Daniëlle e à Lucy pelas aulas de cromatografia e disposição em ajudar.

Por fim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que esta etapa do trabalho chegasse ao fim, os meus mais profundos agradecimentos.

*“Nada em biologia faz sentido exceto à luz da evolução.”*

**Theodosius Dobzhansky**

## RESUMO

SANCHES, Wendell Sawada. **Variação regional da composição e atividade antibacteriana da própolis de *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2022. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022. Versão Original.

O processo de urbanização tem causado forte diminuição na diversidade vegetal, o que, por sua vez, impacta diretamente a vida de determinados animais. Na dinâmica diária das abelhas sem ferrão, essa diminuição tem importância ímpar, não apenas pela perda de locais de nidificação (construção de ninhos), mas também pela diminuição de áreas onde se dá a busca por alimentos e matéria prima para a construção dos ninhos. Dentre as abelhas sem ferrão (Tribo Meliponini) destaca-se a *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia), objeto deste trabalho, cuja própolis também é chamada de geoprópolis. A geoprópolis é uma substância resinosa de composição química complexa, coletada pelas abelhas de brotos, exsudatos e de outras partes do tecido vegetal, e que é transformada através de processos enzimáticos por adição de secreções salivares, sendo adicionados terra e/ou barro. Dentre os componentes químicos, destacam-se a presença de compostos fenólicos, diterpenos, triterpenos e derivados. Diversas atividades farmacológicas das geoprópolis vêm sendo estudadas, com principal interesse as ações antibacteriana, antifúngica, antiviral, e antioxidante. No presente trabalho o objetivo foi avaliar a ação antibacteriana dos extratos etanólicos e clorofórmicos de geoprópolis de *Melipona quadrifasciata* oriundas de três meliponários localizados em áreas com diferentes graus de interferência antrópica através do método disco-difusão e gotejamento direto em placas contendo meio Muller-Hinton ágar semeados com bactérias *Staphylococcus aureus* ou *Escherichia coli*. As amostras de todos os extratos de geoprópolis apresentaram atividade antibacteriana com destaque para o extrato da geoprópolis do meliponário da EACH- USP, que obteve os melhores resultados frente às bactérias *Staphylococcus aureus*. Nas análises químicas, através de cromatografia em camada delgada, dos extratos, observou-se que as geoprópolis são misturas complexas de compostos e que a geoprópolis da EACH-USP, por estar localizada na área mais antropizada dentre as três meliponários, apresenta menor número de componentes.

**Palavras-chave:** Própolis. Geoprópolis. Antibacteriana. *Melipona quadrifasciata*.

Mandaçaia



## ABSTRACT

SANCHES, Wendell Sawada. **Regional variation in composition and antibacterial action of *Melipona quadrifasciata* propolis (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2022. 51 p. Dissertation (Master of Science) – School of Arts, Sciences and Humanities, University of São Paulo, São Paulo, 2022. Original version.

The urbanization process has caused a strong decrease in plant diversity, which in turn directly impacts the lives of certain animals. but also by the reduction of areas where the search for food and raw material for the construction of nests takes place. Among the stingless bees (Tribo Meliponini) stands out *Melipona quadrifasciata* (mandaçãia), object of this work, whose propolis is also called geopropolis. Geopropolis is a resinous substance of complex chemical composition, collected by bees from shoots, exudates and other parts of the plant tissue and which is transformed through enzymatic processes by adding salivary secretions, with soil and/or clay being added. Among the chemical components, the presence of phenolic compounds, diterpenes, triterpenes and derivatives stand out. Several pharmacological activities of geopropolis have been studied, with the main interest being the antibacterial, antifungal, antiviral and antioxidant actions. In the present work, the objective was to evaluate the antibacterial action of ethanolic and chloroform extracts of geopropolis of *Melipona quadrifasciata* from three meliponaries located in areas with different degrees of anthropic interference through the disc-diffusion and direct drip method in plates containing Muller-Hinton agar medium seeded with *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli* bacteria. The samples of all geopropolis extracts showed antibacterial activity, especially the geopropolis extract of the meliponary from EACH-USP, which obtained the best results against *Staphylococcus aureus* bacteria. In chemical analyzes using thin layer chromatography of the extracts, it was observed that geopropolis are complex mixtures of compounds and that geopropolis from EACH-USP, being located in the most anthropized area among the three meliponaries, has fewer components.

Keywords: Propolis. Geopropolis. Antibacterial. *Melipona quadrifasciata*. Mandaçãia

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Limites da Mata Atlântica, Lei 11.428 de 2006 .....	13
Figura 2 - Meliponário EACH.....	25
Figura 3 - Meliponário Cotia .....	26
Figura 4 - Meliponário Natividade da Serra.....	27
Figura 5 - Placa de petri e respectivos códigos de identificação. 1, 2 ou 3 – origem da geoprópolis E ou C – tipo de solvente / . ou * - quantidade aplicada.....	30
Figura 6 - Efeito do extrato etanólico Mqq1 frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
Figura 7 - Efeito do extrato etanólico Mqq2 frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
Figura 8 - Efeito do extrato hidro etanólico Mqq3 frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
Figura 9 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq1 frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
Figura 10 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq2 frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
Figura 11 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq3 frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
Figura 12 - Efeito do extrato etanólico Mqq1 frente a <i>Escherichia coli</i> .....	35
Figura 13 - Efeito do extrato etanólico Mqq2 frente a <i>Escherichia coli</i> .....	35
Figura 14 - Efeito do extrato etanólico Mqq3 frente a <i>Escherichia coli</i> .....	34
Figura 15 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq1 frente a <i>Escherichia coli</i> .....	36
Figura 16 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq2 frente a <i>Escherichia coli</i> .....	35
Figura 17 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq3 frente a <i>Escherichia coli</i> .....	35
Figura 18 - Análise dos extratos clorofórmicos por cromatografia em camada delgada (CCD). Revelação em luz ultravioleta no comprimento de onda 254 e 365 nm e revelador universal anisaldeído sulfúrico .....	37
Figura 19 - Análise dos extratos etanólico por CCD e revelação em luz ultravioleta nos comprimentos de onda (A) 254 nm e (B) 365 nm. E revelador universal anisaldeído sulfúrico. 1- Mqq 1, 2- Mqq 2, 3- Mqq 3, 1 – Ácido Elágico, 2 - Ácido Ursólico, 3- Naringenina, 4- Quercetina, 5 - Ácido Ferúlico, 6 - Ácido p- cum.....	38
Figura 20 – Quadro de substâncias identificados nos extratos etanólicos das geoprópolis....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação dos critérios de inclusão .....	18
Tabela 2 - Relação dos critérios de exclusão.....	19
Tabela 3 - Artigos selecionados de abelhas sem ferrão (ASF) de ocorrência nacional e as respectivas atividades antimicrobianas.....	20
Tabela 4 - Concentrações dos extratos de geoprópolis. ....	28
Tabela 5 - Síntese dos resultados dos extratos etanólicos e clorofórmicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3 frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	32
Tabela 6 - Síntese dos resultados dos extratos etanólicos e clorofórmicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3 frente a <i>Escherichia coli</i> .....	36

## SUMÁRIO

1. <b>Introdução.....</b>	12
2. <b>Revisão de Literatura.....</b>	16
3. <b>Justificativa.....</b>	21
4. <b>Objetivos.....</b>	21
4.1. <b>Objetivo Geral.....</b>	21
4.2. <b>Objetivos Específicos.....</b>	21
5. <b>Materiais e Métodos.....</b>	22
6. <b>Resultados e Discussões.....</b>	29
7. <b>Conclusão.....</b>	41
8. <b>Referências Bibliográficas.....</b>	42

## 1. INTRODUÇÃO

Os processos de urbanização da cidade de São Paulo, assim como da região metropolitana, observados durante todo o século XX sinalizam mudanças significativas no modo de vida da população, no uso do solo e espaços urbanos, nas relações sociais e trabalhistas, nas políticas de ocupação dos espaços, no zoneamento do território, na priorização de certos modais de transportes em detrimentos de outros, na organização da moradia, no meio-ambiente, além de inúmeras outras transformações na forma como a sociedade se organiza (LEAL, *et al.* 2008).

A dinâmica de urbanização envolve, ainda, impactos ambientais, como transformações da paisagem, modificações do solo, alterações climáticas, deterioração da biodiversidade, produzindo um ambiente muitas vezes totalmente diferente do original (PICKETT *et al.*, 2011).

Tais mudanças, invariavelmente, reconfiguram habitats e resultam na modificação da distribuição das espécies nativas, que, por sua vez, são substituídas por populações de novas espécies adaptadas ao ambiente urbano. Como estas novas espécies tendem a demonstrar características muito semelhantes em decorrência da adaptação à urbanidade, vê-se um tipo de homogeneização biológica, uma espécie de barreira à biodiversidade (RODRIGUES *et al.* 2018).

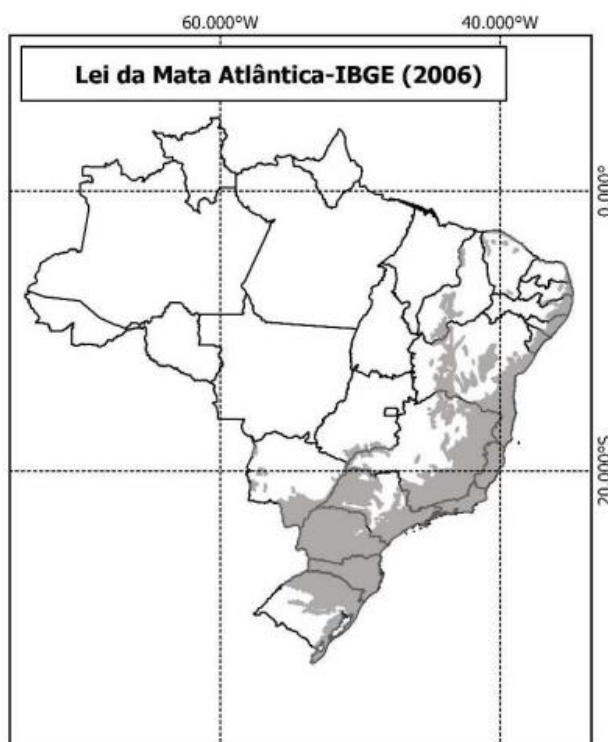
Ainda de acordo com Rodrigues e colaboradores (2018), densidade, tipo de arborização, e diversidade florística impactam significativamente a constituição da fauna no território. Uma maior diversidade da fauna em paisagens urbanas tem sido associada com alta densidade florística e presença condensada de espaços verdes, necessariamente conectados, como no caso de corredores ecológicos.

O município de São Paulo e a grande São Paulo estão totalmente inseridos no interior do bioma Mata Atlântica, o qual apresenta a menor área proporcional remanescente dentre os biomas brasileiros. Presente desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, concentra um grande número de capitais e as maiores densidades populacionais do país, fato que colaborou para a intensa degradação desse bioma. Atualmente restam apenas 12% de sua cobertura original das quais 18% estão no estado de São Paulo, isso, aliado ao fato de apresentar mega diversidade, faz da Mata Atlântica um *hotspot* da biodiversidade (MYERS *et al.*, 2000; IBGE, 2021).

Um dos fatores que tornam esse bioma mega diverso é sua amplitude latitudinal, cujos fragmentos remanescentes vão desde a Paraíba até Santa Catarina, perfazendo

aproximadamente 20° no eixo norte-sul (GONÇALVES & BRANDÃO, 2008). Nesse mesmo estudo os autores procuraram identificar as espécies de abelhas ao longo de um gradiente latitudinal no bioma Mata Atlântica, tendo encontrado 105 espécies, das quais mais de 50% eram de abelhas sem ferrão; dentre essas, 4 (quatro) espécies de abelhas do gênero *Melipona* foram encontradas desde Alagoas até Santa Catarina.

Figura 1- Limites da Mata Atlântica, Lei 11.428 de 2006



Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia Estatística

O processo de polinização é de importância ímpar na manutenção das espécies de plantas gimnospermas e angiospermas. Trata-se de um processo no qual, células reprodutivas masculinas são transferidas das anteras (porção masculina) de uma flor para o estigma (porção feminina) de uma mesma flor ou de uma flor diferente, possibilitando assim a fecundação e, conseqüentemente, a formação de sementes. Para tal transferência as plantas dependem de intermediários, são os chamados agentes polinizadores, que podem ser bióticos ou abióticos (GIANNINI, *et al.* 2015).

A interação entre plantas angiospermas e insetos polinizadores, como sugerem alguns autores, é resultado de um processo co-evolutivo no qual as plantas

determinaram as estratégias de forrageamento – busca por recursos – e os polinizadores determinaram as estratégias reprodutivas das angiospermas (ENDRESS, 1996).

Dentre os agentes polinizadores bióticos, as abelhas constituem o grupo de maior relevância, uma vez que calcula-se que 73% das culturas vegetais ao redor do mundo sejam polinizadas por abelhas (GALLAI & VAISSIERE, 2009).

No Brasil as atividades de criação de abelhas sem ferrão têm sido incentivadas e o número de criadores está aumentando (KOFFLER, *et al.* 2021). Porém, mesmo com esse aumento outras ações são fundamentais para a preservação deste grupo de polinizadores extremamente importante, por exemplo, ações que visem também a manutenção de habitats (PAIXÃO & SILVA 2021).

Atividades antrópicas têm alterado o uso do solo levando à diminuição de áreas naturais e afetando negativamente as populações de abelhas (MACHADO *et al.*, 2020). Tais alterações têm levado a uma limitação das atividades de forrageamento por reduzir a diversidade e a abundância da flora e, conseqüentemente, reduzir os recursos florais disponíveis para as abelhas, contribuindo para a diminuição das populações desses insetos (GOULSON *et al.*, 2015; POTTS *et al.*, 2010). Ademais, o adensamento populacional nos grandes centros urbanos, além de diminuir áreas naturais, está associado a uma maior emissão de gases poluentes como óxidos de nitrogênio e óxidos de enxofre, causando entre outras coisas chuvas ácidas que afetam diretamente a fisiologia das plantas (GIRLING *et al.*, 2013; PAIXÃO & SILVA, 2021).

A poluição atmosférica tem causado impacto negativo nas atividades de forrageamento das abelhas, não apenas por afetar a saúde das plantas, mas também por diminuir a capacidade das abelhas em reconhecer os odores florais que permitem o encontro das abelhas com as flores (GIRLING *et al.*, 2013). Nesse mesmo estudo foi constatado que óxidos de nitrogênio na atmosfera são capazes de interferir no reconhecimento de odores por parte das abelhas.

Nos trabalhos de Girling & colaboradores (2013) e Paixão & Silva (2021) fica evidenciada a interferência da poluição nas atividades de forrageio das abelhas, porém, como citado por Paixão & Silva (2021) os trabalhos que correlacionem poluição e forrageamento são escassos.

A própolis é um dos produtos naturais que há mais tempo é utilizado pela humanidade para fins medicinais e, por séculos, vem sendo empregada sob diversas formas. Relatos indicam que egípcios, incas, assírios, gregos e romanos já faziam uso dessa substância. No antigo Egito (1700 a.C.; “cera negra”), por exemplo, era utilizada

como um dos materiais para embalsamar os mortos. (PEREIRA, SEIXAS & AQUINO NETO, 2002). Foi descrita por gregos e romanos como uma substância capaz de diminuir edemas, aliviar a dor e promover a cicatrização de feridas (MARCUCCI, 1998).

Nos últimos anos, com o avanço dos estudos e descoberta de novos componentes, a própolis vem ganhando popularidade como forma alternativa de medicina e nutrição (TEIXEIRA *et al.*, 2005). A própolis é considerada uma das misturas mais heterogêneas encontradas a partir de fontes naturais, sendo que mais de 300 constituintes já foram identificados e/ou caracterizados em diferentes amostras (COSTA *et al.*, 2014).

A própolis é uma mistura produzida por abelhas com diversos propósitos: no ninho a própolis é utilizada como impermeabilizante e isolante térmico nas paredes, para embalsamar intrusos mortos que não podem ser removidos de dentro do ninho, para vedação de frestas, além de sua enorme importância na defesa química contra microrganismos. É produzida a partir de exsudados vegetais, resinas, secreções salivares e partículas de solo, no caso de abelhas do gênero *Melipona* (BANKOVA, 2005; SALATINO *et al.*, 2019). São diversas as técnicas de obtenção dos extratos da própolis, sendo que o mais utilizado é através do etanol como solvente (DANTAS SILVA *et al.*, 2017). Porém, outros solventes têm sido testados entre eles a água, óleo de oliva, óleo de canola, metanol, clorofórmio, além de diferentes concentrações de etanol (YAMPUC *et al.* 2019; DOS SANTOS *et al.* 2017; KUBILIENE *et al.* 2015; BURIOL *et al.* 2009; MARCUCCI *et al.*, 2000).

Apresenta-se como um material lipofílico, com aroma agradável e, dependendo das fontes florísticas, sua cor varia em tons de marrom, verde e vermelha. Provavelmente é formada por material polimérico, com presença de compostos fenólicos que apresentam componentes com propriedades farmacológicas, sendo relatado que contém aproximadamente 50% de resinas, 40% de ceras e 10% de substâncias voláteis, (GHISALBERTI, 1979; PARK *et al.* 2002; MARCUCCI, 1995).

Dada que grande parte da própolis é coletada em plantas, sua composição química é diretamente dependente dos recursos florísticos que as abelhas têm à disposição em seu raio de coleta. Devido a esse fato, muitos tipos de própolis têm sido registrados (BANKOVA, 2005; MARCUCCI, 1995; BANKOVA *et al.*, 2019), pois,



uma vez que variam conforme a flora disponível, pode se concluir que também variam conforme a região e o clima (SAWAYA, CUNHA & MARCUCCI, 2011).

No Brasil, são descritos 13 tipos de própolis, classificados de acordo com sua composição química, localização geográfica e origem botânica, cinco (5) desses grupos são da região sul, sete (7) da região nordeste e um (1) encontrado nas regiões sudeste e centro-oeste (FERREIRA et al., 2017; PARK, et al., 2002). Essa classificação, além da região geográfica também classifica a própolis de acordo com sua cor e % de substâncias solúveis em etanol (PARK, IKEGAKI & ALENCAR, 2000).

Tabela 1 - Tipologias de própolis brasileiros (PARK, IKEGAKI & ALENCAR, 2000; DAUGSCH, A. et al. 2006; BOEING et al., 2021)

<b>GRUPO</b>	<b>COR</b>	<b>SUBSTÂNCIAS SOLÚVEIS</b>	<b>ORIGEM</b>
Grupo 1 (RS5)	Amarelo	63,0	Região Sul
Grupo 2 (RS1)	Castanho claro	57,0	Região Sul
Grupo 3 (PR7)	Castanho Escuro	65,0	Região Sul
Grupo 4 (PR8)	Castanho Claro	54,5	Região Sul
Grupo 5 (PR9)	Marrom esverdeado	58,7	Região Sul
Grupo 6 (BA11)	Marrom avermelhado	45,9	Região Nordeste
Grupo 7 (BA51)	Marrom esverdeado	43,8	Região Nordeste
Grupo 8 (PE5)	Castanho Escuro	41,3	Região Nordeste
Grupo 9 (PE3)	Amarelo	46,7	Região Nordeste
Grupo 10 (CE3)	Amarelo Escuro	24,1	Região Nordeste
Grupo 11 (PI1)	Amarelo	23,1	Região Nordeste
Grupo 12 (SP12)	Verde ou marrom esverdeado	61,0	Região Sudeste
Grupo 13	Vermelha	43,0	Região Nordeste

Fonte: autor, (2021)

Mais de 200 compostos químicos foram identificados em diferentes amostras de própolis (MARCUCCI et al., 2000). Nos trabalhos de SUREK e colaboradores (2021) foram identificados 63 compostos pertencentes as categorias dos ácidos cinâmicos prenilados, ácidos graxos, flavonoides, ácidos fenólicos, diterpenos, triterpenos, polifenóis e lipídeos fenólicos.

As própolis de abelhas do gênero *Melipona* podem ser chamadas de geoprópolis, pois, partículas de solo são adicionadas à mistura (POPOVA et al., 2021), têm aspecto mais endurecido quando comparada as própolis de outras abelhas e considerável diferença química devido as partículas do solo (LAVINAS, et al., 2019)

O artigo de revisão bibliográfica de Popova e colaboradores (2021) analisou 42 trabalhos envolvendo a análise química das própolis de abelhas sem ferrão em território brasileiro. Nestes trabalhos os componentes mais frequentemente encontrados foram flavonóides, ácidos fenólicos e triterpenos D2entre os flavonóides a naringenina e a quercetina foram os mais observados e entre os ácidos fenólicos os mais encontrados foram ácido elágico e o ácido p-cumárico.

Flavonóides têm sido amplamente pesquisados e considerados promissores no combate a infecções bacterianas o que joga uma luz no problema de saúde cada vez maior que é o aumento da resistência das bactérias aos antibióticos usualmente utilizados (SILVA et al., 2020), por outro lado os ácidos fenólicos têm sido indicados como agentes antioxidantes (KUMAZAWA et al., 2004)

A composição da própolis é profundamente dependente da diversidade florística à disposição, sendo que, muitas vezes, a composição química da própolis de abelhas de mesma espécie é completamente diferente, o que pode afetar inclusive as atividades biológicas, como antibacteriana e antioxidante (GABRIEL *et al.*, 2021; POPOVA *et al.*, 2021).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho será verificar se, e em que medida, a urbanização de cidades da região metropolitana de São Paulo impacta na ação antibacteriana da própolis de abelhas *Melipona quadrifasciata*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Para o presente trabalho desenvolvemos um Protocolo de Revisão Sistemática da Literatura, com a estrutura metodológica para a execução da etapa de revisão sobre a atividade antibacteriana das própolis de abelhas sem ferrão, utilizando o software StArt - LaPES UFSCar (FABBRI *et al.*, 2016).

O protocolo contempla as etapas de planejamento e execução. Na etapa de planejamento, foi realizada a elaboração do protocolo, na de execução, a busca nas bases de dados e seleção dos artigos com base nos critérios de exclusão e inclusão e extração de dados.

As buscas nas bases de dados eletrônicas (Scielo, Scopus, Web of Science e Google Scholar) tiveram como critério artigos publicados a partir de 2012 com limitação para artigos escritos em português ou inglês, utilizando as palavras-chave: stingless bees, propolis, geopropolis, *Melipona quadrifasciata*, composition, origin, plant origin gerando assim os strings de busca: (propolis or geopropolis) and composition and (origin or “plant origin”) and (“stingless bee” or “*Melipona quadrifasciata*”). Os resultados da busca dentro de cada base de dados foram exportados em formato BibTex para importação dentro do software StArt.

Os artigos encontrados com a estratégia de busca inicial foram listados e seus títulos, palavras-chave e resumos foram lidos para verificação de adequação aos critérios de inclusão e exclusão, de acordo com as tabelas 1 e 2.

Tabela 2 - Relação dos critérios de inclusão

CRITÉRIO	DESCRIÇÃO DO CRITÉRIO DE INCLUSÃO
CI1	Serão incluídos artigos que verifiquem na própolis diferentes compostos químicos
CI2	Serão incluídos artigos que observem o efeito antibiótico das própolis
CI3	Serão incluídos trabalhos que comparem a própolis de diferentes regiões
CI4	Serão incluídos os artigos a respeito de própolis de abelhas sem ferrão
CI5	Serão incluídos artigos que analisem a origem botânica da própolis

Fonte: Autor, (2021)

Tabela 3 - Relação dos critérios de exclusão

CRITÉRIO	DESCRIÇÃO DO CRITÉRIO DE EXCLUSÃO
CE1	Serão excluídos os trabalhos que não apontem própolis de abelhas sem ferrão.
CE2	Serão excluídos os artigos que não verifiquem a atividade biológica da própolis.
CE3	Serão excluídos artigos com publicação anterior a 2012.
CE4	Serão excluídos artigos que tratem apenas uma atividade biológica da própolis.
CE5	Serão excluídos artigos que não foram escritos em português ou inglês.
CE6	Serão excluídos trabalhos que não sejam artigos científicos.

Fonte: Autor, (2021)

Após a etapa de seleção os artigos foram lidos em sua íntegra para a extração de informações relevantes. A extração dos dados, foi elaborada com os seguintes critérios: atividade antimicrobiana, método do teste antimicrobiano, identificação dos compostos presentes na própolis, método da análise qualitativa da própolis, espécies avaliadas, diferentes origens da própolis.

A busca na base Google Scholar gerou 50 artigos na base Google Scholar, 19 artigos na Web of Science, 7 artigos na Scopus, 4 artigos na Scielo e 5 artigos foram adicionados manualmente totalizando 85 artigos. Na fase de seleção e extração 54 artigos foram rejeitados e 3 estavam em duplicidade, finalizando com um total de 28 artigos. A fase de extração dos dados permitiu a elaboração da tabela 3 que apresenta os dados referentes à ação antimicrobiana de abelhas sem ferrão com ocorrência em território nacional.

Tabela 2 - Artigos selecionados de abelhas sem ferrão (ASF) de ocorrência nacional e as respectivas atividades antimicrobianas.

Referência	ASF/espécie	Extrato	Microrganismo testado	Atividade antimicrobiana	Avaliação antimicrobiana / método
TORRES, A.R. et al. 2018	<i>Melipona quadrifasciata</i> quadrifasciata, <i>Tetragonisca angustula</i>	Etanol 80%	<i>S. aureus</i>	+	Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM.
			<i>E. faecalis</i>	+	
			<i>E. coli</i>	+	
			<i>K. pneumoniae</i>	+	
SOUSA, J.P.L.M et al. 2019	<i>Apis mellifera</i> <i>Melipona quadrifasciata anthioides</i> <i>Melipona rufiventris</i>	Etanol 95%	<i>S. aureus</i>	+	Difusão em ágar
CAMPOS, J.F. et al. 2014	<i>Melipona orbignyi</i>	Etanol 80%	<i>S. aureus</i>	+	Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM. CBM. CFM
			<i>E.coli</i>	-	
			<i>C. albicans</i>	+	
ARAÚJO, M.J.B.M et al. 2015	<i>Melipona fasciculata</i> Smith	Etanol 70%	<i>S. aureus</i>	+	Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM.
			<i>E. coli</i>	+	
SUREK, M. et al. 2021	<i>Apis mellifera scutellata*</i> <i>Scaptotrigona bipunctata**</i> <i>Melipona quadrifasciata*</i> <i>Plebeia remota*</i>	Etanol	<i>E. coli</i>	-	Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM.
			<i>K. pneumoniae</i>	-	
			<i>P.aeruginosa</i>	-	
			<i>E. faecalis</i>	+	
			<i>S. aureus</i>	+	
dos SANTOS, L. et al. 2017	<i>Melipona quadrifasciata</i> <i>Tetragonisca angustula</i>	Aquoso*** Etanol 70%	<i>S. aureus</i>	+	Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM.
			<i>E. coli</i>	-	
			<i>P.aeruginosa</i>	+	
			Mollicutes	+	

<b>de SOUZA, E.C.A. et al. 2018</b>	<i>Frieseomelitta longipes</i> <i>Apis mellifera</i>	Etanol 95,5%	<i>Bacillus cereus</i>					Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM.
			<i>S. aureus</i>	+				
			<i>P.aeruginosa</i>	+				
			<i>E. coli</i>	+				
			<i>C. albicans</i>	+				
			<i>C. tropicalis</i>	+				
<b>dos SANTOS, C.M. et al. 2017</b>	<i>Melipona quadrifasciata anthioides</i>	Etanol 70%	<i>S. aureus</i>					Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM. CBM. CFM.
			<i>P.aeruginosa</i>	+				
			<i>E. coli</i>	+				
			<i>C. albicans</i>	+				
			<i>C. neoformans</i>	+				
				+				
<b>dos SANTOS, H.F. et al. 2017</b>	<i>Melipona orbignyi</i>	Etanol 70%	<i>S. aureus</i>					Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM. CBM. CFM.
			<i>E. faecalis</i>	+				
			<i>P.aeruginosa</i>	+				
			<i>E. coli</i>	+				
			<i>C. neoformans</i>	+				
			<i>C. albicans</i>	+				
<b>dos SANTOS, T.L.A. et al. 2017</b>	<i>Melipona mondury</i>	Etanol 100% e frações líq./líq.	<i>P.aeruginosa</i>	EEGP	FHGP	FEAGP	FBGP	Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM. CBM.
			<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	
			<i>S.aureus</i> MT	+	+	+	+	
				-	-	+	+	
<b>CARNEIRO, M.J. et al. 2016</b>	<i>Tetragonisca angustula</i>	Etanol 100%	<i>S. aureus,</i>					Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM.
			<i>S. mutans</i>			+		
			<i>E. coli</i>			SD		
<b>CUNHA, M.G. et al. 2013</b>	<i>Melipona scutellaris</i>	Etanol 100% e frações líq./líq.	<i>S. aureus</i>	EEGP	FHGP	FEAGP	FCFG P	Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM. CBM.
			<i>S. mutans</i>	+	+	+	+	
			<i>P. aeruginosa</i>	+	+	-	+	
			<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	
			<i>A. naeslundii</i>	+	+	+	+	
				+	+	+	+	

HOCHHEI M, S. et al. 2020	<i>Melipona quadrifasciata</i>	Etanol 70% e frações líq./líq.	<i>S. aureus</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>E.coli</i> Mollicutes	EEGP	Faq GP	FDiG P	FBG P	FEAG P	Método das microdiluições em caldo, determinação da CIM.
				+	-	+	+	+	
				+	-	+	-	-	
				+	-	+	-	-	
				+	-	+	+	+	

Fonte: Autor, (2021)

\*Nenhuma das própolis foi eficaz contra as bactérias gram negativas

\*\*A própolis de *Scaptotrigona bipunctata* não foi eficaz contra as bactérias gram positivas

\*\*\* O estrato aquoso não apresentou efeito antibacteriano

EEGP – Estrato etanólico de Geoprópolis / FHGP – Fração hexano de Geoprópolis / FEAGP – Fração etil acetato de Geoprópolis / FBGP – Fração butanol de Geoprópolis /

FCFGP – Fração clorofórmio de Geoprópolis / FaqGP – Fração aquosa Geoprópolis / FDiGP – Fração diclorometano Geoprópolis

**a** – a fração butanol das 5 espécies de mollicutes tratadas mostrou efetividade apenas contra *Mycoplasma hominis* e *Mycoplasma mycoides*

*S.aureus* MT – *S. aureus* resistente à metilina.

SD – Sem dados

### 3. JUSTIFICATIVA

Apesar de a própolis ser utilizada pela humanidade há milhares de anos, apenas nas últimas décadas foi possível realizar estudos a respeito de sua composição química, devido, principalmente, ao desenvolvimento de técnicas de cromatografia e espectrofotometria.

Verificou-se a complexa mistura de componentes que constituem a própolis, em especial a geoprópolis e a intrincada relação entre composição florística e constituição química da geoprópolis.

Neste momento no qual muitos dos compostos da própolis já estão descritos e suas atividades bioativas sendo estudadas, é importante relacionar como as ações antrópicas na constituição do espaço urbano afetam a diversidade florística. Também é importante relacionar, como esses processos impactam na constituição da geoprópolis e como e em que medida alteram o potencial bactericida da geoprópolis de *Melipona quadrifasciata*, um importante polinizador e que figura entre as espécies mais criadas pelos meliponicultores do Estado de São Paulo.

### 4. OBJETIVOS

#### 4.1. Objetivo geral

Verificar se, e em que medida, a urbanização de cidades da região metropolitana de São Paulo impacta na ação antibacteriana da própolis de abelhas *Melipona quadrifasciata*.

#### 4.2. Objetivos específicos

- i. Relacionar diversidade florística e a cobertura vegetal com possíveis diferenças de características da própolis
- ii. Analisar os impactos da urbanização na ação antibacteriana da própolis de *Melipona quadrifasciata*



## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### Melipona quadrifasciata

Neste trabalho utilizamos as abelhas da espécie *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia) pertencente a tribo Meliponini, também conhecidas como grupo de abelhas sem ferrão, grupo que figura entre os mais diversos no Brasil. Essa espécie é encontrada na região oriental do país, desde a Paraíba até o Rio Grande do Sul, normalmente associada ao bioma Mata Atlântica, (OLIVEIRA-ABREU *et al.*,2014; PEDRO, 2014; OLIVEIRA *et al.*2015).

São consideradas abelhas generalistas no quesito preferência floral, no entanto, alguns estudos apontam uma preferência dessas abelhas por plantas das famílias *Myrtaceae*, *Asteraceae*, *Melastomataceae*, e *Solanaceae* (Ramalho *et al.* 1989; Wilms e Wiechers 1997).

Caracterizam-se por fazer seus ninhos em cavidades de árvores ou buracos no chão, o número de indivíduos por ninho é menor quando comparadas a outras espécies de abelhas sem ferrão, com aproximadamente 300 – 400 indivíduos. No Brasil encontramos duas subespécies: *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. e *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep. A principal diferença entre elas são as faixas amarelas no dorso do abdome da abelha, as chamadas faixas tergais, que no caso da *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* Lep são contínuas e em *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep essas faixas são interrompidas (AIDAR, 1996; PEDRO, 2014).

### Caracterização do Meio

As amostras de geoprópolis analisadas pertencem a espécie *Melipona quadrifasciata* e vieram de três meliponários situados em regiões com diferentes graus de urbanização e cobertura vegetal no estado de São Paulo, o meliponário da própria EACH-USP localizado na Zona Leste do município de São Paulo nas coordenadas 23° 64'33" S e 46° 97'87" W região de intensa urbanização e pequena cobertura vegetal. O município de Cotia faz parte da região metropolitana de São Paulo (CETESB, 2021 acesso em 04/01/2021) em área de média urbanização e cobertura vegetal, nas coordenadas 23°38'35"S e 46°58'43"W está situado outro meliponário que nos cedeu às amostras de geoprópolis. O terceiro meliponário situa-se no município de Natividade da

Serra nas coordenadas geográficas 23° 19'15.1" S e 45° 29'21.3" W. Dos três meliponários é o que tem menor grau de perturbação antrópica e maior cobertura vegetal.

### Própolis do meliponário EACH

É o meliponário sujeito a maior interferência antrópica, está localizado no campus da EACH – USP na zona leste do município de São Paulo. A área do município de São Paulo segundo IBGE (2021) é de 1.524,110 km<sup>2</sup> e densidade demográfica de 7.328,26 hab./km<sup>2</sup>.

Geograficamente está situado no Planalto Atlântico com clima que varia entre tropical úmido de altitude e subtropical permanentemente úmido (TARIFA & ARMANI, 2001).

O município apresenta grande variação de cobertura vegetal sendo praticamente nula em área urbana e alta nos limites do município principalmente na região sul. Na zona leste no distrito Aricanduva onde está localizado o campus da EACH – USP a biomassa vegetal é praticamente nula com padrão de uso e ocupação do solo caracterizado por residencial horizontal de baixo padrão com armazéns, indústria e serviços (BARROS & LOMBARDO, 2016). No presente trabalho o extrato da geoprópolis do meliponário da EACH – USP (Figura 2) foi denominado Mqql.

Figura 2 - Meliponário EACH



Fonte: Google earth (acesso em 20/08/2021)

### Própolis do município de Cotia

Um dos meliponários que cedeu a própolis para o presente estudo está localizado no município de Cotia próximo à Reserva Florestal do Morro Grande no alto da Serra de Paranapiacaba, 34 km a leste do centro da cidade de São Paulo. O clima predominante é o Cfb (Koppen 1948) caracterizado por temperado de inverno menos seco com regime de chuvas de verão (CATHARINO *et al.* 2006).

Segundo dados do IBGE (2021) Cotia tem uma área territorial de 323.994 km<sup>2</sup> com uma densidade demográfica de 620,81 hab/km<sup>2</sup> fazendo parte da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP). A área de cobertura vegetal preservada destinada a preservação permanente ou reserva legal é de 472 hectares, ou seja, 1,23% do território, já a área destinada à lavoura ou pastagem ocupa 898 hectares que equivale a 2,77% do território.

O meliponário em Cotia foi escolhido devido a sua localização. Quando comparado aos outros dois meliponários é o que mostra situação intermediária nos quesitos cobertura vegetal regional e urbanização local. Neste trabalho o extrato da geoprópolis oriunda do município de Cotia (Figura 3) foi denominada Mqq2.

Figura 3 - Meliponário Cotia



Fonte: Google earth (acesso em 20/08/2021)

### Própolis do município de Natividade da Serra

O meliponário escolhido que apresenta o menor nível de perturbação antrópica está localizado no município de Natividade da Serra no alto da Serra do Mar no Núcleo Santa Virgínia que pertence ao Parque Estadual da Serra do Mar (PESM) o clima é tropical úmido e subúmido sem estação seca, a vegetação classificada como Floresta Ombrófila Densa Montana com manchas de florestas em vias de regeneração e de silvicultura de eucaliptos (PILLA & AMOROZO, 2009).

Natividade da Serra tem uma área territorial de 833.372 km<sup>2</sup> com uma densidade demográfica de 8,01 hab./km<sup>2</sup>, a área de cobertura vegetal preservada destinada a preservação permanente ou reserva legal é de 20.787 hectares; a área destinada a lavoura ou pastagem ocupa 21.596 hectares IBGE (2021). O extrato da geoprópolis de Natividade da Serra (Figura 4) foi denominado Mqq3.

Figura 4 - Meliponário Natividade da Serra



Fonte: Google earth (acesso em 20/08/2021)

### Preparo da geoprópolis

O preparo dos extratos ocorreu com a utilização de dois solventes, etanol 70% e clorofórmio, de modo que cada uma das 3 amostras originou dois extratos, um etanólico e outro clorofórmico, totalizando 6 extratos. O etanol 70% foi preparado com a

utilização de 70 ml de etanol absoluto grade espectroscópica e 30 ml de água MilliQ. O clorofórmio utilizado também foi de grade espectroscópica.

As geoprópolis foram maceradas em cadinho com a adição de nitrogênio líquido até que chegasse ao aspecto de pó. A cada amostra adicionou-se os solventes na proporção 1:10 (g/ml), em seguida foram colocados em banho-maria com sonicação por 60 minutos e para que a água do banho não ultrapassasse 30°C gelo foi adicionado. Após essa etapa, os extratos foram deixados por 48 horas em agitação a 20 RPM em temperatura ambiente e depois deixados por 4 dias em geladeira

Para a obtenção do extrato final as soluções foram filtradas em papel filtro CAAL n°1541 de porosidade 7,5µm, a tabela 4 aponta os extratos e respectivas concentrações.

Tabela 3 - Concentrações dos extratos de geoprópolis.

EXTRATOS	CONCENTRAÇÃO
<i>Etanólicos (EtOH)</i>	
<b>Mqq1</b>	19,8µg/µl
<b>Mqq2</b>	6,0µg/ µl
<b>Mqq3</b>	7,2µg/ µl
<i>Clorofórmicos (Cl<sub>3</sub>CH)</i>	
<b>Mqq1</b>	384µg/ µl
<b>Mqq2</b>	403µg/ µl
<b>Mqq3</b>	408µg/ µl

Fonte: Autor, (2021)

#### Atividade antibacteriana das geoprópolis

Para os ensaios da atividade antibacteriana das geoprópolis foram utilizadas cepas de referência (American Type Culture Collection - ATCC) dos micro-organismos *Escherichia coli* ATCC – 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC – 25923 adquiridos da CEFAR Diagnóstica. As cepas foram mantidas em freezer -20°C em solução triptona caseína soja e glicerol até o momento da utilização. Os métodos empregados na avaliação da atividade antibacteriana foram o teste de disco-difusão em ágar descrito

por Bauer e Kirby (1966) e o gotejamento dos extratos de geoprópolis diretamente no meio de cultura.

O método de Bauer e Kirby (1966) fornece resultados qualitativos a respeito da atividade antibacteriana. Seu conceito básico é a difusão da substância antibacteriana na superfície do ágar a partir de um disco de papel filtro impregnado com o antibacteriano levando a um halo de inibição de crescimento. Já o gotejamento direto sob o ágar é baseado no mesmo conceito de difusão, porém sem a utilização dos discos de papel filtro o que acaba levando a formação de um halo (mancha) irregular indicando a inibição do crescimento bacteriano.

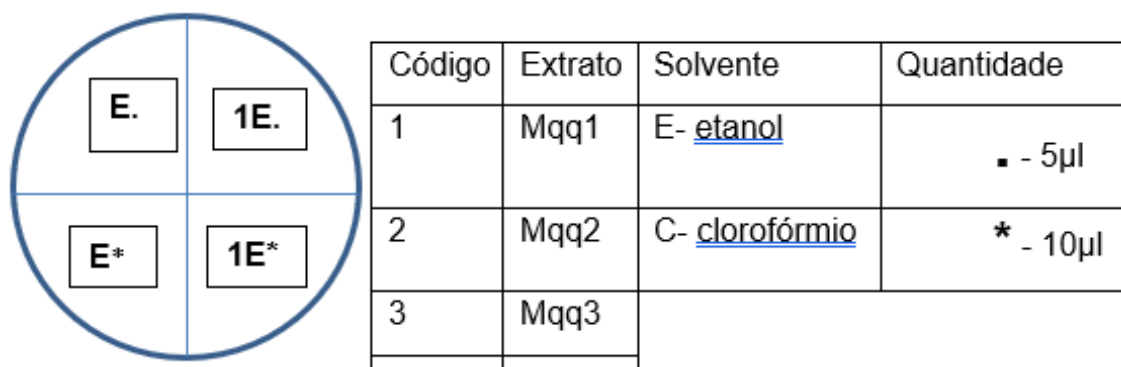
Os ensaios iniciaram com a preparação dos inóculos bacterianos, as cepas foram retiradas do freezer e após o descongelamento foram ressuspensas em tubo Falcon contendo 4 ml de caldo triptona e mantidas em agitação (180 RPM) por 17 horas a 35°C. Após o período de incubação para que a leitura do espectrofotômetro (D30 - eppendorf) OD<sub>600</sub> atingisse o valor 1,0 foi necessário a diluição em 2,0 ml de caldo.

O inóculo foi então centrifugado por 15 minutos a 3000 RPM e temperatura de 4°C, o sobrenadante foi descartado e realizada nova ressuspensão dessa vez em 4,0 ml de PBS. Após nova leitura da absorbância encontramos OD<sub>600</sub> = 1,0 o que corresponde a aproximadamente 108 UFC/ml sendo compatível com a escala 0,5 de McFarland.

Os inóculos foram semeados com alça microbiológica em placas de petri contendo meio Muller-Hinton ágar e mantidos em estufa a 35°C por 15 horas com a finalidade de se obter colônias isoladas. Após a incubação e utilizando palitos estéreis 1(uma) colônia de cada cepa foi inoculada em dois frascos Erlenmeyer contendo 100 ml de caldo triptona (KASVI). Os inóculos foram mantidos sob agitação a 35°C por 15 horas a 180 RPM diluições com caldo triptona foram realizadas até atingir absorbância 1,0 em OD<sub>600</sub>.

Placas de petri contendo meio Muller-Hinton ágar foram divididas em 4 quadrantes e semeadas utilizando alça de Drigalski com o correspondente inóculo de cada bactéria. Cada placa de petri recebeu o extrato de uma das própolis em duas quantidades, 5µl e 10µl ocupando assim 2 quadrantes, nos outros dois quadrantes foram aplicados apenas os solventes na mesmas quantidades 5µl e 10µl (figura 5) que foram os controles.

Figura 5 - Placa de petri e respectivos códigos de identificação. 1, 2 ou 3 – origem da geoprópolis E ou C – tipo de solvente / . ou \* - quantidade aplicada



Fonte: Autor, (2021)

Dois conjuntos de placas foram semeados: no primeiro conjunto os extratos e solventes foram aplicados sobre discos papel filtro CAAL n°1541 de 7,0 mm de diâmetro; em outro conjunto de placas, os extratos e solventes foram aplicados diretamente sobre a placa no meio de cultura. O experimento foi realizado em triplicata. Todos os processos, preparo das própolis, obtenção dos extratos e aplicação das própolis nas placas, foram realizados na ausência de luz direta.

#### Análise química dos extratos de geoprópolis

Para a análise do perfil químico dos extratos de geoprópolis empregou-se a técnica de separação em cromatografia em camada delgada (CCD) que se baseia na separação dos compostos da mistura do extrato de acordo com afinidade destes com a fase móvel ou a fase estacionária (DEGANI *et al.*, 1998).

Assim, alíquotas de 6 µl dos padrões (1- Ácido Elágico, 2- Ácido Ursólico, 3- Naringenina, 4- Quercetina, 5- Ácido Ferúlico, 6- Ácido p-cumárico) (Sigma-Aldrich) e extratos descritos na figura 5 foram aplicados sobre uma placa de sílica gel 60 F254 20x20 cm (MERCK) e eluídas com a fase móvel descrita por OPSENICA e colaboradores (2016) que se trata da mistura dos solventes tolueno/acetato de etila/ácido fórmico nas proporções 5:4:1 (v/v). Após a corrida cromatográfica a placa foi revelada sob luz ultravioleta (254 e 365 nm) e depois com a solução reveladora universal de

anissaldeído sulfúrico modificado sob aquecimento para identificação das diferentes classes de compostos.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### Análise da atividade antibacteriana dos extratos das geoprópolis

A avaliação da atividade antibacteriana dos extratos das própolis foi realizada através da observação dos halos de inibição de crescimento nas proximidades do ponto de aplicação dos extratos das própolis após 24 horas.

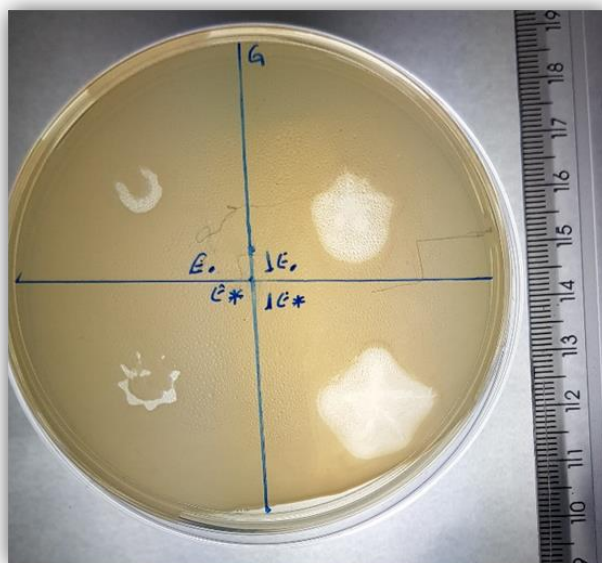
Para servir de grupo controle, na mesma placa efetuou-se a aplicação do mesmo solvente utilizado na preparação do extrato e nas mesmas quantidades que o extrato, a avaliação ocorreu através da comparação de tamanho e intensidade dos halos de inibição.

#### Bactérias Gram positivas

##### ➤ *Staphylococcus aureus*

As figuras 6, 7 e 8 mostram os efeitos dos extratos etanólicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3 respectivamente das própolis frente à bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC – 25923). As figuras 9, 10 e 11 mostram os efeitos dos extratos clorofórmicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3 frente às mesmas bactérias.

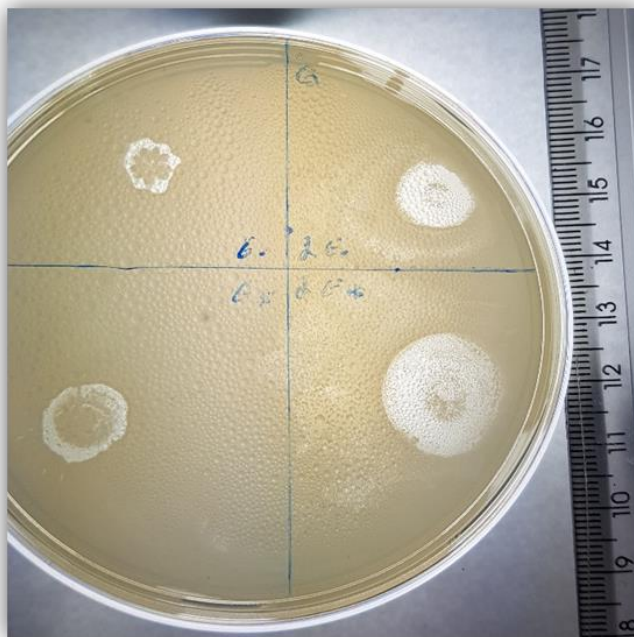
Figura 6 - Efeito do extrato etanólico Mqq1 frente à *Staphylococcus aureus*



Fonte: Autor, (2021)

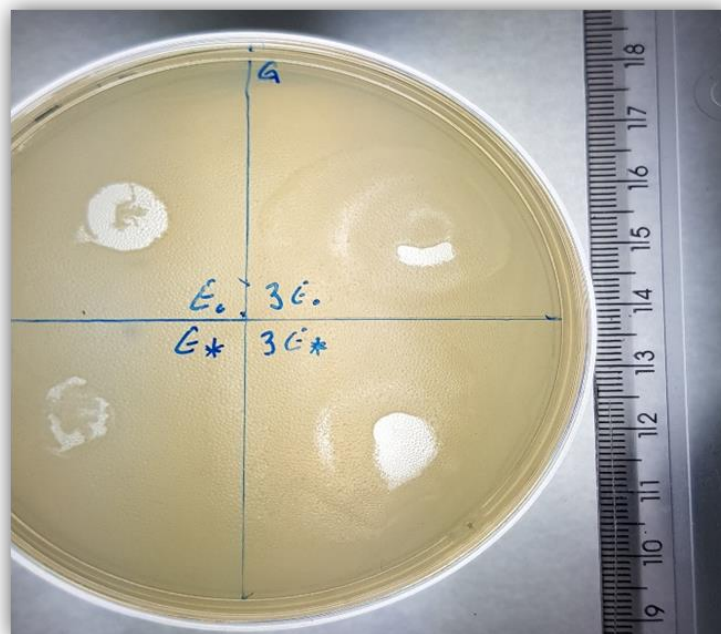


Figura 7 - Efeito do extrato etanólico Mqq2 frente à *Staphylococcus aureus*



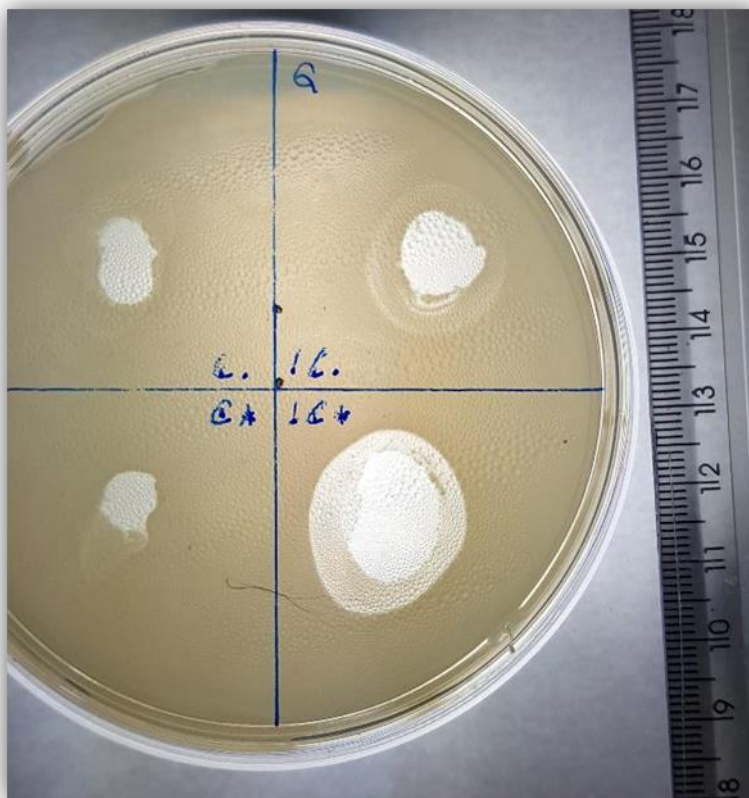
Fonte: Autor, (2021)

Figura 8 - Efeito do extrato hidro etanólico Mqq3 frente à *Staphylococcus aureus*



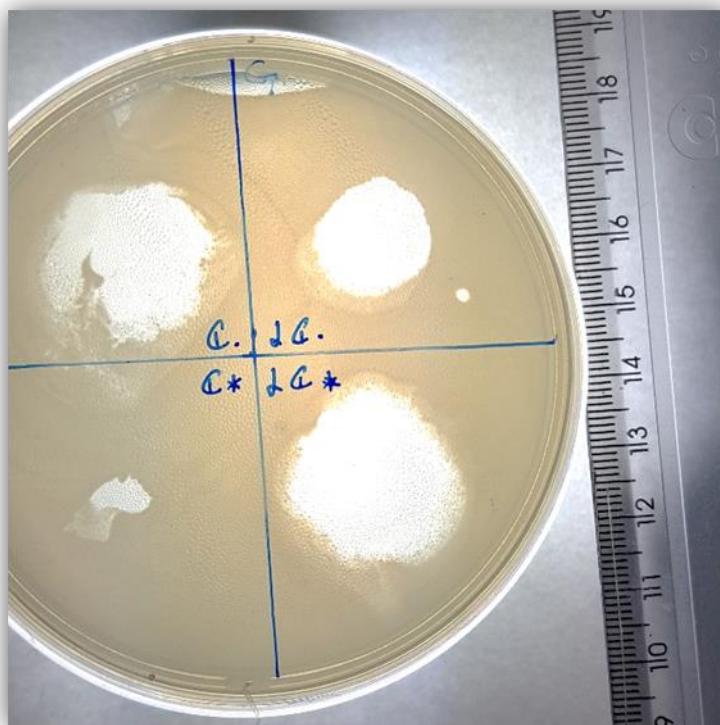
Fonte: Autor, (2021)

Figura 9 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq1 frente à *Staphylococcus aureus*

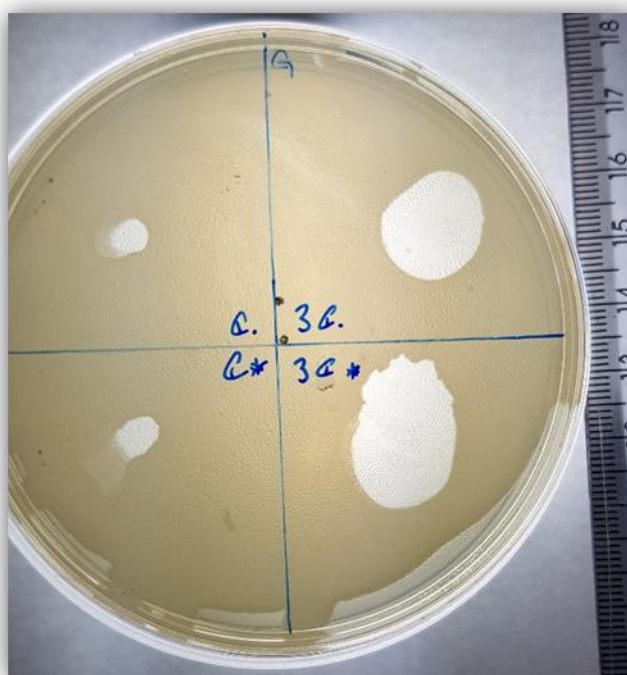


Fonte: Autor, (2021)

Figura 10 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq2 frente à *Staphylococcus aureus*



Fonte: Autor, (2021)

Figura 11 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq3 frente à *Staphylococcus aureus*

Fonte: Autor, (2021)

A tabela 5 sintetiza os dados dos ensaios antibacterianos dos extratos etanólicos e clorofórmicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3 frente à bactéria *Staphylococcus aureus* após 24 horas de incubação.

Tabela 5 - Síntese dos resultados dos extratos etanólicos e clorofórmicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3 frente à *Staphylococcus aureus*

SOLVENTE	ORIGEM	AÇÃO ANTIBACTERIANA	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3	PLACA 3	PLACA 2	PLACA 1	AÇÃO ANTIBACTERIANA	ORIGEM	SOLVENTE
ETANOL 70% 5µL	Mqq1	‡‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡‡	Mqq1	CLOROFÓRMIO 5µL
	Mqq2	‡	OK	OK	OK	OK	OK	OK	‡	Mqq2	
	Mqq3	‡	OK	OK	OK	∅	OK	OK	‡‡	Mqq3	
	1E	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡	1C	
	2E	‡	OK	OK	OK	OK	OK	OK	‡	2C	
	3E	‡	OK	OK	OK	∅	OK	OK	‡	3C	
ETANOL 70% 10µL	Mqq1	‡‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡‡	Mqq1	CLOROFÓRMIO 10µL
	Mqq2	‡‡	OK	OK	OK	OK	OK	OK	‡‡	Mqq2	
	Mqq3	‡	OK	OK	OK	∅	OK	OK	‡‡	Mqq3	
	1E	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡	1C	
	2E	‡	OK	OK	OK	OK	OK	OK	‡	2C	
	3E	‡	OK	OK	OK	∅	OK	OK	‡	3C	
LEGENDAS	‡	ação antibacteriana do solvente									
	‡‡	ação antibacteriana do extrato									
	OK	PLACA VIÁVEL									
	∅	PLACA NÃO VIÁVEL									

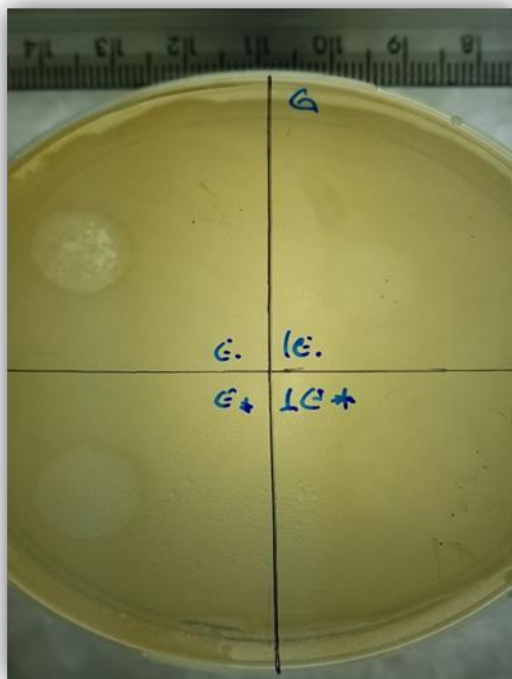
Fonte: Autor, (2021)

## Bactérias Gram negativas

### ➤ *Escherichia coli*

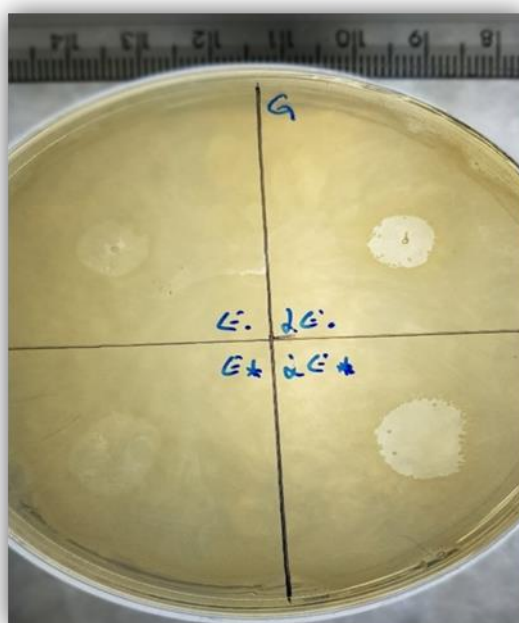
As figuras 12, 13 e 14 mostram os efeitos dos extratos etanólicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3, respectivamente das própolis frente à bactéria *Escherichia coli* (ATCC – 25922). As figuras 15, 16 e 17 mostram os efeitos dos extratos clorofórmicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3 frente às mesmas bactérias.

Figura 12 - Efeito do extrato etanólico Mqq1 frente à *Escherichia coli*



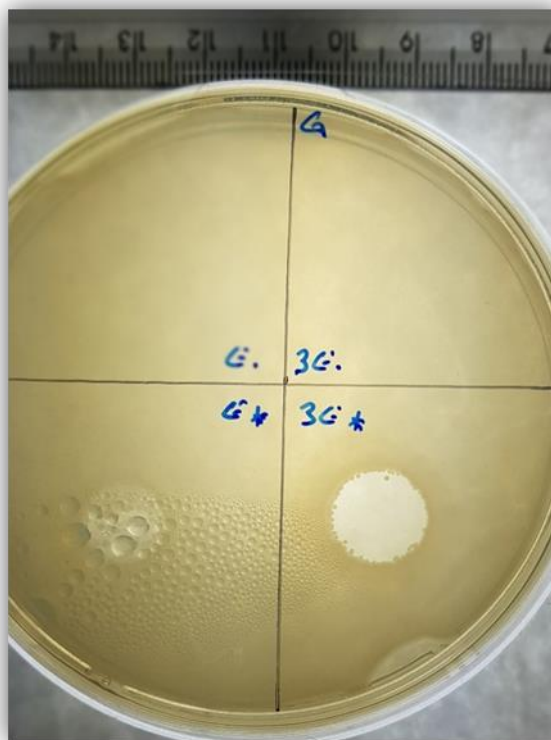
Fonte: Autor, (2021)

Figura 13 - Efeito do extrato etanólico Mqq2 frente à *Escherichia coli*



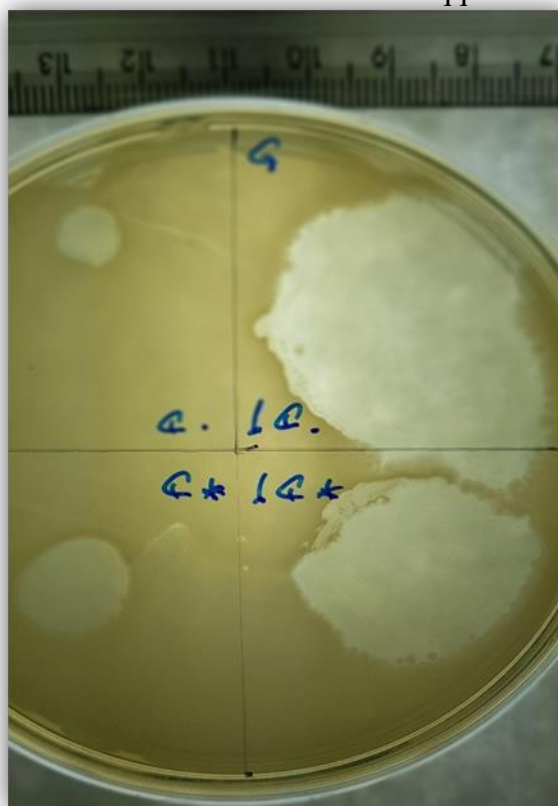
Fonte: Autor, (2021)

Figura 14 - Efeito do extrato etanólico Mqq3 frente à *Escherichia coli*



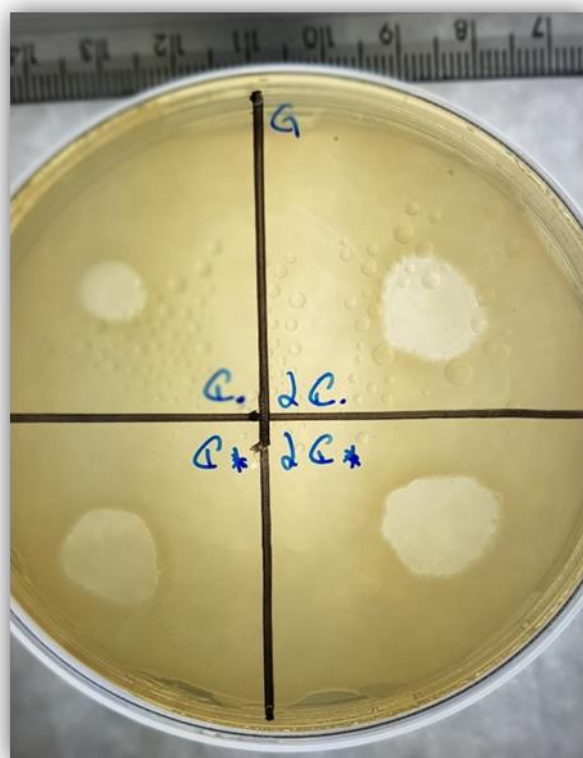
Fonte: Autor, (2021)

Figura 15 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq1 frente à *Escherichia coli*



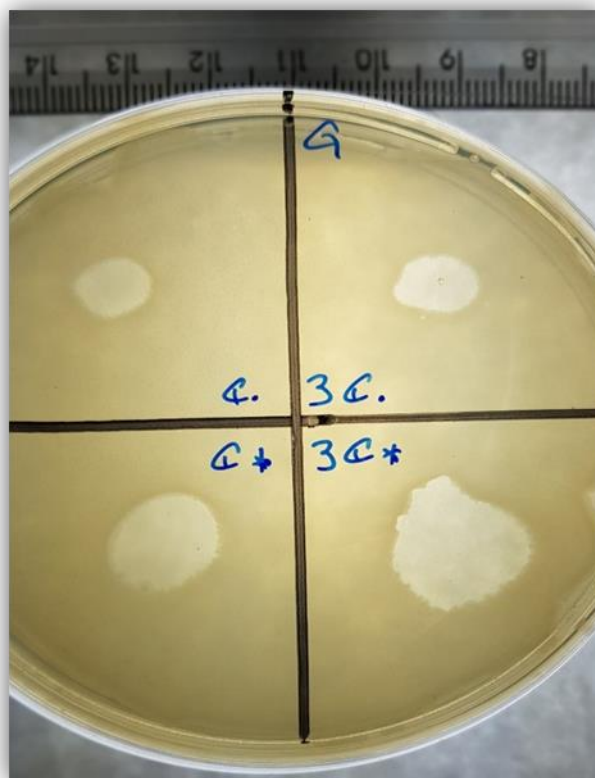
Fonte: Autor, (2021)

Figura 16 - Efeito do extrato clorofórmico Mqq2 frente à *Escherichia coli*



Fonte: Autor, (2021)

Figura 17- Efeito do extrato clorofórmico Mqq3 frente à *Escherichia coli*



Fonte: Autor, (2021)

Tabela 4 - Síntese dos resultados dos extratos etanólicos e clorofórmicos Mqq1, Mqq2 e Mqq3 frente à *Escherichia coli*

SOLVENTE	ORIGEM	AÇÃO ANTIBACTERIANA	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3	PLACA 3	PLACA 2	PLACA 1	AÇÃO ANTIBACTERIANA	ORIGEM	SOLVENTE
ETANOL 70% 5uL	Mqq1	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡‡	Mqq1	CLOROFÓRMIO 5uL
	Mqq2	‡‡	OK	OK	OK	OK	OK	OK	‡‡	Mqq2	
	Mqq3	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡	Mqq3	
	1E	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡	1C	
	2E	‡	OK	OK	OK	OK	OK	OK	‡	2C	
	3E	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡	3C	
ETANOL 70% 10uL	Mqq1	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡‡	Mqq1	CLOROFÓRMIO 10uL
	Mqq2	‡‡	OK	OK	OK	OK	OK	OK	‡‡	Mqq2	
	Mqq3	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡‡	Mqq3	
	1E	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡	1C	
	2E	‡	OK	OK	OK	OK	OK	OK	‡	2C	
	3E	‡	OK	OK	∅	OK	OK	OK	‡	3C	

LEGENDAS	‡	ação antibacteriana do solvente	
	‡‡	ação antibacteriana do extrato	
	OK	PLACA VIÁVEL	
	∅	PLACA NÃO VIÁVEL	

Fonte: Autor, (2021)

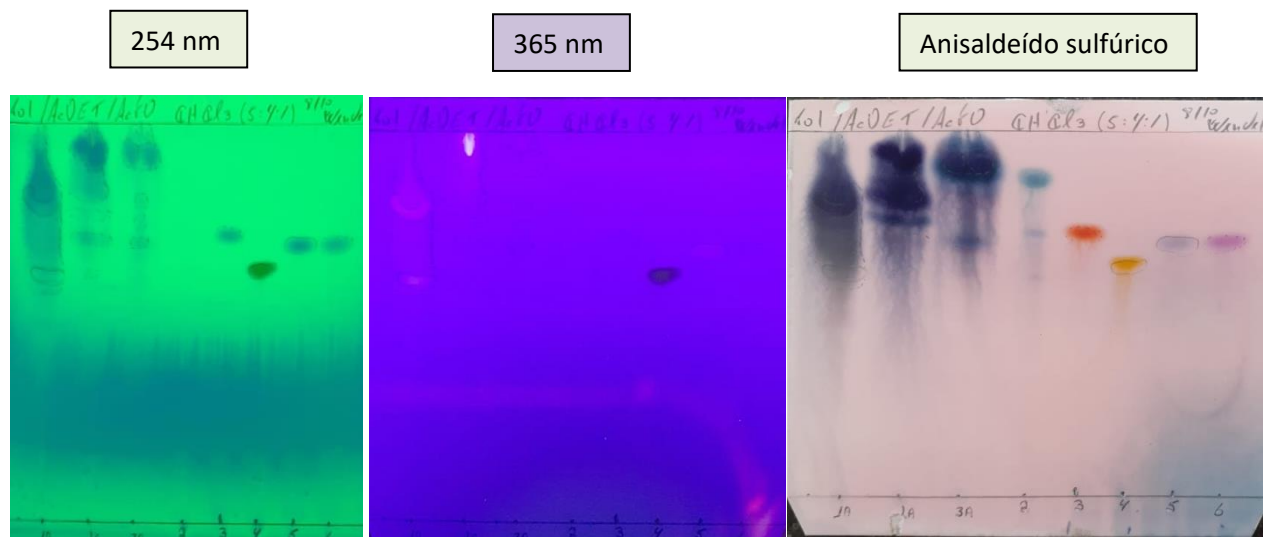
### Análise química dos extratos de geoprópolis

As análises realizadas em CCD dos extratos etanólicos e clorofórmicos mostraram se tratar de mistura de compostos.

O extrato etanólico apresentou uma melhor separação de seus compostos na fase móvel utilizada, quando visualizamos a revelação em anisaldeído sulfúrico modificado.

A revelação dos 3 (três) extratos clorofórmicos das própolis sob luz ultravioleta em 254 nm nos permitiu observar compostos que absorvem nesse comprimento de onda, bem como os padrões 3 (naringenina), 4 (quercetina), 5 (ácido ferúlico) e 6 (ácido p-cumárico). A identificação de compostos dos extratos clorofórmicos não foi possível, pois houve um arraste dos compostos, impossibilitando a separação das bandas (Figura 18). Na revelação dos mesmos extratos em 365 nm não foi observado nenhum composto dos extratos clorofórmicos Mqq2 e Mqq3 que tivesse absorvido nesse comprimento de onda. No extrato clorofórmico Mqq1 foi possível observar algumas bandas levemente coradas e o padrão 4 (quercetina) (Figura 19).

Figura 18 - Análise dos extratos clorofórmicos por cromatografia em camada delgada (CCD). Revelação em luz ultravioleta no comprimento de onda 254 e 365 nm e revelador universal anisaldeído sulfúrico.



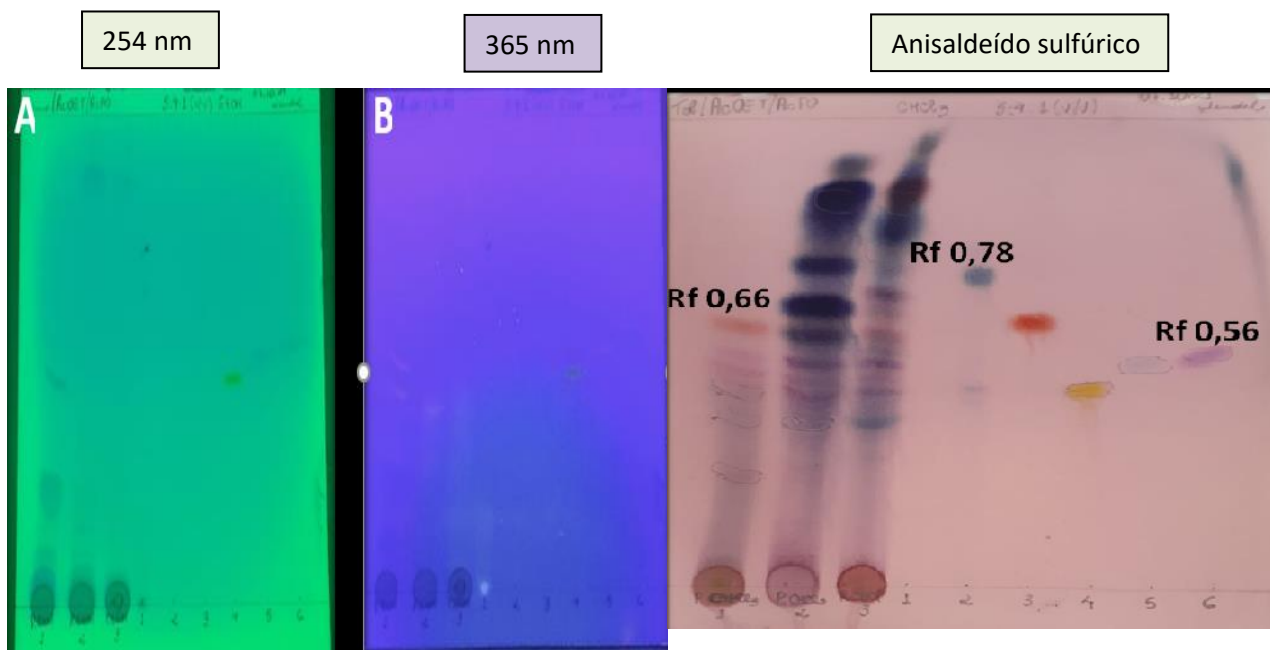
Fonte: Autor, (2021)

A revelação em anisaldeído sulfúrico modificado permite afirmar, que os extratos clorofórmicos são misturas de substâncias, e que a fase móvel utilizada não foi a mais adequada para esses extratos, pois os compostos ficaram muito aglomerados, não permitindo uma adequada separação das bandas. Foi possível identificar os padrões 2, 3, 4, 5 e 6 (Figura 18).

A revelação da maioria das substâncias contidos nos extratos etanólicos em luz ultravioleta não foi observada, pois esses não absorviam nos comprimentos de onda utilizados. Foi observado apenas, 1 spot em Mqq1 na revelação em 254 nm e 2 spots em Mqq2 na revelação 365 nm todos eles bastante fracos e sem correlação com os padrões utilizados. Após a revelação em anisaldeído sulfúrico modificado foi possível observar, que o extrato Mqq 1 é menos rico em substância quando comparado com os outros dois extratos, Mqq2 e Mqq3. Já os extratos Mqq 2 e 3 são parcialmente semelhantes, pois, é possível observar alguns spots intensos no extrato Mqq2, que não são visíveis no extrato Mqq3 (Figura 21).



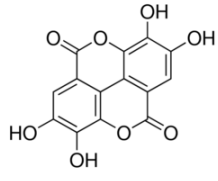
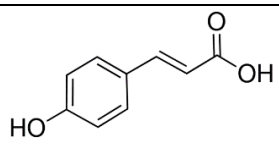
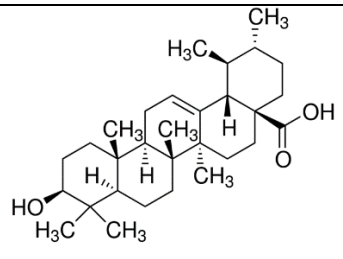
Figura 21 - Análise dos extratos etanólico por CCD e revelação em luz ultravioleta nos comprimentos de onda (A) 254 nm e (B) 365 nm e revelador universal anisaldeído sulfúrico. 1- Mqq 1, 2- Mqq 2, 3- Mqq 3, 1 – Ácido Elágico, 2 - Ácido Ursólico, 3- Naringenina, 4- Quercetina ,5- Ácido Ferúlico, 6 - Ácido p-cumárico



Fonte: Autor, (2021)

Com o auxílio dos padrões, é possível sugerir, que no extrato Mqq1 existe a presença do flavonóide naringenina com o mesmo Rf (0,66) observado para o padrão, também se observou o ácido p-cumárico com o Rf (0,56). Para o extrato Mqq 2 observou-se um spot que sugere a presença de ácido p-cumárico, já no extrato Mqq3 além do ácido p-cumárico observa-se um spot que sugere a presença de ácido ursólico pois apresenta Rf (0,78) que é o mesmo identificado para o padrão (Tabela 7). Para esses três compostos, além de apresentarem aparentemente mesmo fator de retenção (Rf), as cores são bastante semelhantes.

Figura 20 - Quadro das substâncias identificadas nos extratos etanólicos das geoprópolis.

<i>Composto</i>	<i>Classe</i>	<i>Estrutura</i>
Naringenina	Flavonóide	
Ácido p-cumárico	Ácido fenólico	
Ácido ursólico	Triterpeno	

Fonte: Autor, (2021)

A função antibacteriana da geoprópolis é de essencial importância na manutenção da saúde dos ninhos, sendo, essa atividade resultado dos efeitos sinérgicos entre os muitos componentes químicos como flavonóides, ácidos fenólicos, terpenos e derivados (BANKOVA *et al.* 1995; MARCUCCI, 1995; SFORCIN *et al.* 2005).

Os extratos hidroetanólicos 70% das geoprópolis dos 3 ninhos de *Melipona quadrifasciata* utilizados neste estudo, Mqq1, Mqq2 e Mqq3, apresentaram atividade antibiótica frente as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC) e *Escherichia coli* semelhantes aos trabalhos encontrados na literatura com extratos etanólicos de própolis das abelhas *Apis mellifera*, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona orbignyi*, *Melipona fasciculata*, *Melipona rufiventris* e *Tetragonisca angustula*, os quais mostram atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* mais intensa do que quando comparadas à atividade contra *Escherichia coli* (TORRES, *et al.* 2018; CAMPOS, *et al.* 2014; SOUSA, *et al.* 2019; ARAÚJO, *et al.* 2015).

Buriol e colaboradores (2009) testaram a ação antibacteriana do extrato hidroetanólico da própolis de *Apis mellifera* em diversas concentrações 30%, 70% e

95%, além do extrato de óleo de canola, os resultados mostraram, que tais extratos têm ação contra *Staphylococcus aureus*, com destaque para o extrato etanólico 30%, que apresentou na média o maior halo de inibição de crescimento. Nos ensaios contra *Escherichia coli* os extratos etanólico 30% e oleoso não mostraram efetividade, apenas os extratos 70% e 95%, cujos halos de inibição foram bastante semelhantes em termos de tamanho aos halos observados frente à *Staphylococcus aureus*.

Nos ensaios de SUREK e colaboradores (2021) 4 extratos etanólicos de própolis foram analisados, a própolis de *Apis mellifera* e as própolis de 3 espécies de abelhas sem ferrão: *Melipona quadrifasciata*, *Plebeia remota* e *Scaptotrigona bipunctata*, os resultados mostraram que todos os extratos têm ação contra *Staphylococcus aureus* com exceção do extrato de *Scaptotrigona bipunctata*. Os ensaios frente a *Echerichia coli* mostraram que nenhum extrato foi capaz de inibir o crescimento bacteriano, a não ser em concentrações muito elevadas >1000µg/ml.

Outros trabalhos também utilizaram solventes que não o etanol para a obtenção do extrato da própolis chegando a resultados semelhantes, ou seja, ação antibacteriana mais eficaz frente a *Staphylococcus aureus* do que frente a *Escherichia coli*. Yam-Puc e colaboradores (2019) utilizando uma mistura de clorofórmio e metanol (1:1) identificaram diferentes componentes que apresentavam ação antibacteriana, Marcucci e colaboradores (2001) obtiveram extratos de própolis utilizando metanol como solvente e chegaram a resultados similares aos encontrados em nosso trabalho, maior eficiência dos extratos contra *Staphylococcus aureus* do que contra *Echerichia coli*.

Kubiliene e colaboradores (2015) realizaram a extração utilizando polietileno glicol 400 + óleo de oliva e polietileno glicol 400 + água, em ambos os extratos os resultados mostram maior eficiência do extrato frente a *S. aureus* do que frente a *E. coli*, além disso esses mesmos resultados mostram que o diâmetro do halo de inibição é semelhante em tamanho ao halo formado pelo disco de ampicilina.

A geoprópolis desempenha função essencial no ninho, uma vez que é uma barreira química contra microrganismos. Dessa forma, mesmo com toda a variação química que lhe é peculiar sempre apresentará função bactericida. Acredita-se que tal ação é fruto do efeito sinérgico entre ácidos fenólicos, flavonóides e derivados (MARCUCCI, 1995; BANKOVA *et al.* 1999). Autores sugerem que a ação antibiótica da própolis é devida a alterações na membrana plasmática, como o aumento da permeabilidade e diminuição da mobilidade e que a diferença na ação antibiótica entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas seria a composição da parede celular das

bactérias uma vez que bactérias Gram-negativas apresentam na parede celular enzimas hidrolíticas que degradariam alguns componentes das própolis (BANKSOTA, TEZUKA & KADOTA, 2001; MIRZOEVA, GRISHANIN & CALDER, 1997; VARGAS *et al.* 2004).

As atividades farmacológicas das própolis têm sido atribuídas principalmente aos compostos fenólicos, em especial flavonóides e ácidos fenólicos (BURIOL *et al.* 2009), dado esse que vai ao encontro dos resultados deste trabalho, pois nos ensaios antibacterianos o extrato que obteve a melhor eficiência foi o Mqq1, e nas análises em Cromatografia em Camada Delgada foi o único a indicar a presença de um flavonóide (Naringenina) e um ácido fenólico (ácido p-cumárico), os demais extratos indicam a presença de diversos componentes, porém, não correlacionados com os padrões utilizados.

## 7. CONCLUSÃO

Todos os extratos de geoprópolis testados apresentaram ação antibacteriana frente à *Staphylococcus aureus* (ATCC) e à *Escherichia coli* (ATCC), sendo *S. aureus* mais sensível aos extratos do que *E. coli*.

Este estudo, que teve por objetivo geral verificar se, e em que medida, a urbanização de cidades da região metropolitana de São Paulo impacta na ação antibacteriana da própolis de abelhas *Melipona quadrifasciata*, indicou apontamentos que mostraram que a urbanização altera qualitativamente a composição da geoprópolis. Através dos dados da cromatografia em camada delgada verificou-se menos componentes no extrato Mqq1 que os demais extratos. Por outro lado, foi o extrato que teve destaque na atividade antibacteriana.

Analisando os dados de CCD nota-se que os extratos Mqq2 e Mqq3 apresentam maior riqueza de componentes, o que pode estar relacionado à maior diversidade florística na região do entorno dos meliponários.

A geoprópolis oriunda do meliponário da EACH (Mqq1) foi aquela que se destacou, mostrando ação antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* nas duas quantidades aplicadas (5µl e 10µl) e nos dois extratos, hidroetanólico 70% e clorofórmico. É o meliponário que está situado na região mais antropizada entre os três analisados, o que nos leva a crer que um ambiente mais estressante faz com que a

própolis tenha maior potencial bactericida. Outros estudos serão conduzidos nesse sentido.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDAR, D.S. A. **Mandaçaia: biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata*** - RIBEIRÃO PRETO: SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA, 104 P.; IL.; 23 cm. série monografias, n° 4. 1996

ARAÚJO, M. J. A. M.; BÚFALO, M. C.; BRUNO JOSÉ CONTI, B. J. *et al.* The chemical composition and pharmacological activities of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* smith in northeast brazil. **Journal of Molecular Pathophysiology** v.4 2015

BANKOVA, V.; BERTELLI, D.; BORBA, R.; CONTI, B.J.; CUNHA, I. B. S.; DANERT, C.; EBERLIN, M. N.; FALCÃO, S. I.; ISLA, M. I.; MORENO, M. I. N.; PAPOTTI, G.; POPOVA, M.; SANTIAGO, K. B.; SALAS A.; SAWAYA, A. C. H. F.; SCHWAB, N. V.; SFORCIN, J. M.; SIMONE-FINSTROM, M.; SPIVAK, M.; TRUSHEVA, B.; VILAS-BOAS, M.; Michael WILSON, M.; ZAMPINI, C. Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. *Journal of Apicultural Research*, 2019 Vol. 58, No. 2, 1–49, <http://dx.doi.org/10.1080/00218839.2016.1222661>

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology** 100 114–117. 2005

BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S. *et al.* Antibacterial activity of essential oils from Brazilian propolis. *Fitoterapia (Milano)* v.70 n.2 p. 190-193. 1999.

BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; KUJUMGIEV, A. *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian Propolis. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 50, n. 3-4, p. 167-172, 1995.

BANKSOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Recent progress in pharmacological research of própolis. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 7, p. 561–571. 2001.

BARROS, H. R.; LOMBARDO, M. A ilha de calor urbana e o uso e cobertura do solo em são paulo-sp. **Geosp – espaço e tempo(online)**, v. 20, n. 1, p. 160-177. .ISSN 2179-0892. 2016.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.

BOEING, T.; MEJÍA, J. A. A.; CCANA-CCAPATINTA, G. V.; MARIOTT, M.; DA SILVA, M. V. A. F.; SOUZA, P.; MARIANO, L. N. B.; OLIVEIRA, G. R.; ROCHA, I. M.; COSTA, G. A.; ANDRADE, S. F.; SILVA, L. M.; BASTOS, J. K. The gastroprotective effect of red propolis extract from Northeastern Brazil and the role of its isolated compounds. **Journal of Ethnopharmacology** 267 (2021) 113623

BURIOL, L.; FINGER, D.; SCHMIDT, E. M. *et al.* Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 296-302 2009.

CAMPOS, J. F.; DOS SANTOS, U. P.; MACORINI, L. F. B. *et al.* Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities of propolis from *Melipona orbignyi* (hymenoptera, apidae). **food and chemical toxicology** v. 65 p. 374-380. 2014

CARNEIRO, M. J.; LÓPEZ, B. G-C.; LANCELLOTTI, M. *et al.* (2016) Evaluation of the chemical composition and biological activity of extracts of *Tetragonisca angustula* propolis And *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), **Journal of Apicultural Research**, v. 55:4, p. 315-323, DOI: 10.1080/00218839.2016.1243295. 2016

CATHARINO,E.L.M.; BERNACCI,L.C.; CORREA-FRANCO,A.D. *et al.* Aspectos da composição e diversidade do componente arbóreo das florestas da reserva florestal do morro grande, Cotia, SP. **Biota Neotropica**, v. 6 n. 2. 2006

ÇELEMLI Ö.G. Chemical properties of propolis collected by stingless bees. **Pot-Honey**. Springer, New York, NY. DOI.ORG/10.1007/978-1-4614-4960-7\_39. 2013

CETESB – COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Emissões veiculares no estado de São Paulo 2017**. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/6/2019/02/Relat%C3%B3rio-Emiss%C3%B5es-Veiculares-2017.pdf>. acesso em 04/01/2021

COSTA, A. S.; MACHADO, B. A. S.; UMSZA-GUEZ, M. A.; CIRQUEIRA, M. G.; NUNES, S. B.; PADILHA, F. F. Levantamento dos estudos com a própolis produzida no estado da Bahia. **Sitientibus série Ciências Biológicas** 13: 10.13102/scb324 (2014).

CUNHA, M. G.; FRANCHIN, M.; LÍVIA CÂMARA DE CARVALHO GALVÃO, L. C. M.; *et al.* antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geoprópolis. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1-9. 2013.

DANTAS SILVA, R. P.; MACHADO, B. A. S.; BARRETO, G. A. *et al.* antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various brazilian propolis extracts. **Plos one**, v. 12, n. 3, p. e0172585. 2017.

DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PACHECO, E.; LIMA, I.B.; ABREU, J. A.; PARK, Y. K. Própolis Vermelha e sua origem botânica, **Mensagem Doce**, 2006, n° 89, disponível em: <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/89/msg89.htm>. Acesso em 7 abril 2021.

DE SOUZA, E. C. A.; DA SILVA, E. J. G.; CORDEIRO, H. K. C. *et al.* chemical compositions and antioxidant and antimicrobial activities of propolis produced by *Frieseomelitta longipes* and *Apis mellifera* bees. **Química Nova**, v. 41, n. 5, p. 485-491. 2018.

DEGANI, A.L.G.; CASS, Q.B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia um breve ensaio. **Química Nova Na Escola** n° 7. 1998.

DOS SANTOS, T. L. A.; QUEIROZ, R. F.; SAWAYA, A. C. H. F. *et al.* *Melipona mondury* produces a geopropolis with antioxidant, antibacterial and antiproliferative activities. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, p. 2247-2259. 2017.

DOS SANTOS, H. F.; CAMPOS, J. F.; DOS SANTOS, C. M. *et al.* Chemical profile and antioxidant, anti-inflammatory, antimutagenic and antimicrobial activities of geopropolis from the stingless bee *Melipona orbignyi*. *International journal of molecular sciences*, v. 18, n. 5, p. 953. 2017.

DOS SANTOS, L.; HOCHHEIM, S.; BOEDER, A. M. *et al.* Chemical characterization, antioxidant, cytotoxic and antibacterial activity of propolis extracts and isolated compounds from the brazilian stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula*. **journal of apicultural research**, v. 56, n. 5, p. 543–558. DOI: 10.1080/00218839.2017.1371535. 2017

ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge University press. 1996.

FABBRI, S.; SILVA, C.; HERNANDES, E. *et al.* **Improvements in the start tool to better support the systematic review process**. Proceedings of the 20th international conference on evaluation and assessment in software engineering. p. 1-5. 2016.

FERREIRA, J. M.; FERNANDES-SILVA, C. C.; SALATINO, A.; NEGRI, G.; MESSAGE, D.; New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. *J Sci Food Agric* 97:3552–3558 (2017).

GABRIEL, M. B.; CARNEIRO, M. J.; CAMARGO, R. C. R. *et al.* The chemical composition and antioxidant activity of mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*) geopropolis varies more due to region than month of collection. **natural product research**, DOI: 10.1080/14786419.2021.1892101. 2021.

GALLAI, N.; VAISSIERE, B. E. **Guidelines for the economic valuation of pollination services at a national scale**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2009



GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. **Bee world**. país de gales, v. 60, p. 59-84. 1979.

GIANNINI, T.C.; CORDEIRO, G.D.; FREITAS, B.M. *et al.* the dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in brazil. **journal of economic entomology**. v. 108, p. 849–857, doi.org/10.1093/jee/tov093. 2015.

GIRLING, R. D.; LUSEBRINK, I.; FARTHING, E. *et al.* Diesel exhaust rapidly degrades floral odours used by honeybees. **scientific reports**, n. 2779, p. 1-5, DOI.ORG/10.1038/SREP02779. 2013.

GONÇALVES, R. B.; BRANDÃO, R. F. Diversidade de abelhas (hymenoptera, apidae) ao longo de um gradiente latitudinal na mata atlântica. **biota neotrop**. v. 8, n. 4. 2008.

GOULSON, D.; NICHOLLS, E.; BOTÍAS, C.; *et al.* Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**. v. 347, n. 6229. 2015.

HOCHHEIM S.; BORGES, P. P.; BOEDER, A. M. *et al.* A bioguided approach for the screening of antibacterial compounds isolated from the hydroalcoholic extract of the native brazilian bee's propolis using mollicutes as a model. **Frontiers microbiol**. v. 11. P. 558. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00558. 2020.

IBGE INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/busca.html?searchword=> acesso em: 13/08/2021

KOFFLER, S.; BARBIÉRI, C.; GHILHARDI-LOPES, N.P.; *et al.* A buzz for sustainability and conservation: the growing potential of citizen science studies **Sustainability**, v. 13, n. 2, p. 959, 2021.

KUBILIENE, L.; LAUGALIENE, V.; PAVILONIS, A. *et al.* A lternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. **BMC complementary and alternative medicine** 15:156 DOI 10.1186/S12906-015-0677-5. 2015.

KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y. *et al.* Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **Journal of ethnopharmacology** v. 64 p. 235–240. 1999.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food chemistry**, 84(3), 329-339. 2004.

LAVINAS, F. C.; MACEDO, E. H. B. C.; SÁ, G. B. L.; AMARAL, A. C. F.; SILVA, J. R. A.; AZEVEDO, M. M. B.; BÁRBARA, A.; VIEIRA, B. A. DOMINGOS, T. F. S.; VERMELHO, A. B.; CARNEIRO, C. S.; RODRIGUES, I. A. Brazilian stingless bee propolis and geopropolis: promising sources of biologically active compounds. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 29 (2019) 389–399.

LEAL, G. C. G.; DE FARIAS, M. S. S.; ARAUJO, A. F. O processo de industrialização e seus impactos no meio ambiente urbano. **Qualitas revista eletrônica**. v. 7, n. 1, 2008.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.; MITTERMEIER, C. G. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **NATURE** 403, 853–858 <https://doi.org/10.1038/35002501>. 2000

PAIXÃO, G. P. G.; SILVA, C. M. Impactos da poluição atmosférica no processo de polinização das abelhas: cidade do rio de janeiro. **Revista ibero americana de ciências ambientais**, v.12, n.3, p.90-101, DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2021.003.0009. 2021

PARK, Y. K.; ALENCAR, S.M.; AGUIAR, C. L. Botanical Origin and Chemical Composition of Brazilian Propolis. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 2502–2506.

PICKETT, S. T. A.; CADENASSO, M. L.; GROVE, J. M. *et al.* Urban ecological systems: scientific foundations and a decade of progress. **Journal of environmental management** 92 331e362. 2011

POPOVA, M.; TRUSHEVA, B.; BANKOVA, V. Propolis of stingless bees: A Phytochemist's guide through the jungle of tropical biodiversity. *Phytomedicine* 86, 153098. 2021

MACHADO, T.; VIANA, B. F.; DA SILVA, C. I. *et al.* how landscape composition affects pollen collection by stingless bees? **Landscape ecology**. v. 35, n. 3, p. 747–759. 2020

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**. v. 26 n. 2, p. 83-99. 1995

MARCUCCI, M. C.; RODRIGUEZ, J.; FERRERES, F. *et al.* Chemical Composition of Brazilian Propolis from Sao Paulo State. **Z. Naturforsch.** v. 53. n. 1-2. p. 117-119. 1998

MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; CUSTÓDIO, A. R. *et al.* evaluation of phenolic compounds in brazilian propolis from different geographic regions. **Z. Naturforsch.** v. 55, n. 1-2, p. 76 – 81. 2000.

MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA, C. *et al.* Phenolic compounds from brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of ethnopharmacology** v. 74, p. 105–112. 2001

MIRZOEVA, O. K.; GRISHANIN, R. N.; CALDER, P. C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiological research**, v. 152, n. 3, p. 239–246. 1997.

OLIVEIRA, K.N.; PAULA-LEITE, M.C.; FAQUINELLO, P. *et al.* Parâmetros genéticos para características produtivas e biométricas em abelha *Melipona quadrifasciata* anthidioides lepeletier **arq. bras. med. vet. zootec.**, v. 67, n. 3, p. 819-826. 2015

OLIVEIRA-ABREU, C.; HILÁRIO, S.D.; LUZ, C.F.P. *et al.* Pollen and nectar foraging by *Melipona Quadrifasciata* anthidioides lepeletier (hymenoptera: apidae: meliponini) in natural habitat. **Sociobiology** v. 61, n. 4, p. 441–448. 2014

OPSENICA, D.M.; ISTIVOJEVIĆ, P.; TRIFKOVIĆ, J. *et al.* TLC fingerprinting and pattern recognition methods in: the assessment of authenticity of poplar type propolis. **Journal of chromatographic Science**. v. 54, n. 7, p. 1077-1083. 2016.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S.M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of brazilian propolis. **Journal of agricultural and food chemistry**. v. 50, n. 9, p. 2502–2506. 2002.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M. 2000. Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físicoquímicas e propriedades biológicas. Mensagem Doce 58. Disponível em <http://www.apacame.org.br>; acesso em 7 abril 2021.

PEDRO, S. R. The stingless bee fauna in brazil (hymenoptera: apidae). **Sociobiology** v. 61, n. 4, p. 348–354. 2014

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Quim. Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326. 2002.

PILLA, M.A.C.; AMOROZO, M.C.M. O conhecimento sobre os recursos vegetais alimentares em bairros rurais no vale do paraíba, sp, brasil **Acta Bot. Bras.** v. 23, n. 4, p. 1190-1201. 2009

POPOVA, M.; TRUSHEVA, B.; BANKOVA, V. Propolis of stingless bees: a phytochemist's guide through the jungle of tropical biodiversity. **Phytomedicine**. DOI: 10.1016/J.PHYMED.2021.153098. 2021.

POTTS, S. G.; BIESMEIJER, J. C.; KREMEN, C. *et al.* Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends Ecol. Evol.** v. 25, n. 6, p. 345–353. 2010.

RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Utilization of floral resources by species of *Melipona* (apidae, meliponinae): floral preferences. **Apidologie**. v. 20, n. 3, p. 185–195 1989

RODRIGUES, A. G.; BORGES-MARTINS, M.; ZILIO, F. Bird diversity in an urban ecosystem: the role of local habitats in understanding the effects of urbanization. **Iheringia, série zoologia**. v. 108. 2018.

SALATINO, A.; PEREIRA, L. R. L.; SALATINO, M. L. F. The emerging market of propolis of stingless bees in tropical countries. **Moj Food Processing and Technology**.; v. 7, n. 2, p. 27–29. 2019

SAWAYA, A.C.H.F.; CUNHA, I.B.S.; MARCUCCI, M.C. Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. *Chemistry Central Journal*, 5:27 (2011).

SFORCIN, J. M.; ORSI, R. O.; BANKOVA, V. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production. **Journal of ethnopharmacology**. v. 98, n. 3, p. 301-305, 2005.

SOUSA, J. P. L. M.; PIRES, L. O.; PRUDÊNCIO, E. R. *et al.* Estudo químico e potencial antimicrobiano da própolis brasileira produzida por diferentes espécies de abelhas. **Rev. Virtual Quim.** v. 11, n. 5, p. 1480-1497. 2019.

SILVA, A.D.; KOWALSKI, L.; PAGNO, A. R.; PIANA, M. Atividade antimicrobiana de flavonóides: Uma revisão de literatura

SUREK, M.; FACHI, M. M.; COBRE, A. F. *et al.* Chemical composition, cytotoxicity, and antibacterial activity of propolis from africanized honeybees and three different meliponini species. **Journal of ethnopharmacology**. v.269, p. 113662. 2021

TARIFA, J. R.; ARMANI, G. Os climas “naturais”. **Os climas da cidade de São Paulo (JR Tarifa & TR de Azevedo, org.). GEOUSP, FFLCH, Universidade de São Paulo, Novos Caminhos**. v. 4, p. 34-70. 2001.

TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; MEIRA, R. M. S. A. *et al.* Plant origin of green propolis: bee behavior, plant anatomy and chemistry **Evidence-based complementary and alternative medicine**. v. 2, n. 1, p. 85-92. 2005.

TORRES, A. R.; SANDJO, L. P.; FRIEDEMANN, M. T. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. **Brazilian journal of medical and biological research** v. 51. 2018

VARGAS, A. C. LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcóolico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p159-163. 2004.

WILMS, W.; WIECHERS, B. Floral resource partitioning between native *Melipona* bees and the introduced africanized honey bee in the brazilian atlantic rain forest. **Apidologie**. v. 28, n. 6, p. 339–355. 1997

YAM-PUC, A.; SANTANA-HERNÁNDEZ, A.A.; PAMELA N. *et al.* Pentacyclic triterpenes and other constituents in propolis extract from *Melipona beecheii* collected in yucatan, méxico. **Revista brasileira de farmacognosia**. v. 29, p. 358–363. 2019