

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

THAÍS LUANA GRZEGOZESKI

**INFLUÊNCIA DA ESPÉCIE DE ABELHA E DA ORIGEM FLORAL DO
MEL SOBRE A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE ÀS
BACTÉRIAS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E *ESCHERICHIA COLI***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2015

THAÍS LUANA GRZEGOZESKI

**INFLUÊNCIA DA ESPÉCIE DE ABELHA E DA ORIGEM FLORAL DO
MEL SOBRE A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE ÀS
BACTÉRIAS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E *ESCHERICHIA COLI***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do curso de Engenharia Ambiental, do Departamento Acadêmico Ambiental do Câmpus de Campo Mourão, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof^a Dr^a Elizabete Satsuki Sekine
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Agenor A. Bueno

CAMPO MOURÃO

2015



TERMO DE APROVAÇÃO

**INFLUÊNCIA DA ESPÉCIE DE ABELHA E DA ORIGEM FLORAL DO MEL SOBRE
A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE ÀS BACTÉRIAS *STAPHYLOCOCCUS
AUREUS* E *ESCHERICHIA COLI***

por

Thaís Luana Grzegozeski

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 13 de fevereiro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof^a. Dr^a. ELIZABETE SATSUKI SEKINE

Prof. Dr. PAULO AGENOR ALVES BUENO

Prof. Dr. DÉBORA CRISTINA DE SOUZA

Prof. Dr. RAQUEL DE OLIVERIA BUENO

À meu pai e minha mãe pelo apoio
sempre, em tudo o que me fizesse
feliz e o amor que é infinito.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela força que me deu em inúmeros momentos de fraqueza e desespero diante a tantas dificuldades na vida acadêmica e fora dela.

Aos meus pais por todos os incentivos, pelo apoio, amor, compreensão e confiança que depositaram em mim, tudo sempre foi pensando em vocês que são quem eu tenho de mais importante na vida.

A Prof Bete pelos ensinamentos de todos esses 5 anos. Foram anos de orientação na iniciação, tcc e na vida também. Foi uma força pra mim provavelmente sem saber. Guardarei um apresso imenso.

Aos professores biólogos de quem eu sempre estive mais próxima. Vocês, que nunca negaram ajuda, sempre apoiaram e eu sempre soube que teria uma mão e se necessário até um colo, com vocês. Muito obrigada. Agradeço também a todos os professores que tiveram a generosidade tinham a intenção de somar na vida dos alunos ensinando o conteúdo da ementa e as coisas da vida que em muitas vezes valiam mais.

A todos os meus colegas de iniciações, foram vários que contribuíram no meu crescimento, arrasamos.

Agradeço também ao produtor por ter cedido os méis para a pesquisa. Foi de extrema importância.

Aos meus amigos que fiz em Campo Mourão, vocês foram a melhor coisa daqui e sempre serão a melhor e maior saudade. Não posso citar nomes porque como Deus é bondoso, ele me deu vários por todos os anos que estive aqui. Vocês foram a família de Campo Mourão e muitos são os irmãos que eu não tenho, mas escolhi vocês para esse posto. Só tenho agradecimentos a fazer, muito obrigada pela paciência, pelos tererês, pelas cervejas, pelos almoços, pelos dias de futebol, pelas loucuras que passamos... São infinitas coisas que sem vocês não existiriam.

Aos meus amigos de Santa Helena que eram amigos irmãos antes e depois, mesmo eu longe, continuam do meu lado. Obrigada pelo abraço quente de casa, pelo aconchego e por não me abandonarem, é pra vida toda! Eu realmente amo vocês.

As amigas do Rio, obrigada por me aguentarem! A distancia esteve presente quase sempre, mas nem parecia, vocês sempre foram próximas e sentia vocês aqui comigo. Obrigada pela insanidade que me fez rir por várias e várias vezes! Muito amor envolvido.

Agradeço a todos e tenham a minha gratidão e meu agradecimento sempre. Contem comigo para toda a vida!

Muito obrigada!

*“Mesmo que já tenha feito uma
longa caminhada, sempre haverá
mais um caminho a percorrer.”
Santo Agostinho*

RESUMO

GRZEGOZESKI, Thaís Luana. **Influência da espécie de abelha e da origem floral do mel sobre a atividade antimicrobiana frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli***. 2015. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

As abelhas têm grande importância no ecossistema porque fazem a polinização de diferentes espécies da flora. O conhecimento das plantas de uma determinada região, sua época de florescimento e as características do pólen, auxiliam na determinação das espécies vegetais contidas no mel. Uma das espécies mais conhecidas de abelhas é a *Apis mellifera*, é utilizada comercialmente no mundo, esta espécie foi introduzida no Brasil no século XIX. As abelhas sem ferrão são habitantes dos trópicos, sendo que na América Latina, existem aproximadamente 300 espécies. Dentre estas espécies nativas, a *Tetragonisca angustula* popularmente conhecida como jataí, é a mais conhecida e criada. Outra espécie é a *Scaptotrigona* sp. conhecida como tubuna, é uma abelha de uma ampla distribuição nas Américas, embora não exista em muitas regiões. Os usos medicinais do mel datam desde os tempos mais antigos. Atualmente tem-se referido a um efeito inibidor em cerca de 60 espécies de bactérias. Existe essa atividade antimicrobiana positiva frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* que podem trazer malefícios aos humanos. Foram usadas três amostras de mel de *T. angustula*, *Scaptotrigona* sp. e *A. mellifera*. As amostras de mel foram submetidas a análise polínica e obteve-se valores quantitativos e qualitativos. Para o estudo microbiológico foi usada a técnica de poços, onde os méis foram pipetados em placas com *S. aureus* e *E. coli*. No mel de *T. angustula* foram identificados 13 tipos polínicos, no mel de *Scaptotrigona* sp. foram identificados 11 tipos polínicos e no mel de *A. mellifera* foram identificados 9 tipos polínicos. Somente em uma amostra de mel de cada abelha que houve espécie polínica dominante. Frente a *S. aureus* todas as amostras apresentaram poder antimicrobiano, mas somente entre as amostras de *Scaptotrigona* sp. obteve-se variações significativas de potencia antimicrobiana. Frente a *E. coli*, todas as amostras de mel deram positivos ao poder antimicrobiano, mas não houve variação significativa entre as amostras de mel testadas. Obteve-se variação significativa entre o tamanho dos halos contra *S. aureus* e *E. coli*, sendo que a *S. aureus* foi mais suscetível ao mel em comparação com *E. coli*.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana, análise polínica, *Tetragonisca angustula*, *Scaptotrigona* sp., *Apis mellifera*.

ABSTRACT

GRZEGOZESKI, Thaís Luana. **Influence of bee species and honey floral origin on antimicrobial activity over *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli***. 2015. 41 f. Course Completion Assignment (Bachelor of Environmental Engineer) – Federal University of Technology – Paraná. Campo Mourão, 2015.

Bees have a great importance in an ecosystem because they pollinate different floral species. To know the plants in a given region, its flowering time and their pollen characteristics help in determining the plant species contained in the honey. One of the best known species of bees is *Apis mellifera*. Commercially used in the world; this species was introduced in Brazil in the nineteenth century. Stingless bees are inhabitants of the tropics and, in Latin America, there are about 300 species. Among these native species, *Tetragonisca angustula* popularly known as jataí, is the best known and commercially established. Another species is the *Scaptotrigona* sp., known as tubuna. This bee is widely distributed throughout America; however, it is not found in many regions. The medicinal uses of honey date from the earliest times. Lately, there have been references of an inhibitory effect on about 60 species of bacteria. There is a positive antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, bacteria that can bring harm to humans. Three samples of *T. angustula* honey, *Scaptotrigona* sp. and *A. mellifera* were used. The honey samples were pollen analyzed and qualitative and quantitative values were obtained. For the microbiological study, the technique of wells was used where honeys were pipetted on plates containing *S. aureus* and *E. coli*. In *T. angustula* honey, 13 pollen types were identified, in honey *Scaptotrigona* sp., 11 pollen types and in *A. mellifera* honey, 9 pollen types were identified. Only one honey sample from each bee showed a dominant pollen specie. All samples showed antimicrobial power against *S. aureus*, but only *Scaptotrigona* sp. samples had significant variations in antimicrobial potential. For *E. coli*, all the honey samples had positive values of antimicrobial power; however, there was no significant variation among the tested honey samples. A significant variation in the size of the halos against *S. aureus* and *E. coli* was obtained, but *S. aureus* was more susceptible to honey when compared to *E. coli*. More studies should be made to observe the connection of the antimicrobial power with other variable factors present in honey.

Keywords: antimicrobial activity, pollen analysis, *Tetragonisca angustula*, *Scaptotrigona* sp., *Apis mellifera*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
3 REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1 ABELHAS, MEL E PÓLEN	13
3.2 MICROBIOLOGIA E MICRORGANISMOS	15
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 AMOSTRAS DE MEL	18
4.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE MEL.....	19
4.3 MICROBIOLOGIA	20
4.3.1 Microrganismos	20
4.3.2 Escala Mc Farland.....	20
4.3.3 Meios de Cultura	21
4.3.4 Teste Antimicrobiano.....	21
4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1 ANÁLISE POLÍNICA	23
5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	28
5.2.1 Atividade Antimicrobiana em <i>Staphylococcus aureus</i>	28
5.2.2 Atividade Antimicrobiana em <i>Escherichia coli</i>	31
6 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

Abelhas têm extrema importância em um ecossistema, pois fazem a polinização de diferentes espécies da flora de um local. Esta atividade contribui para o equilíbrio tanto da fauna quanto da flora de um ecossistema, contribuindo também para a produção agrícola (KERR, 2001).

O conhecimento das plantas de uma região, sua época de florescimento e as características do pólen, auxiliam na determinação das espécies vegetais que contribuem para a composição do mel. O conhecimento da flora utilizada pelas abelhas para a produção do mel em diferentes regiões possibilita um melhor aproveitamento dos recursos florais. Dentre as espécies da flora, as vegetais nativas de valor apícola podem ser utilizadas para a produção de mel e outros produtos apícolas em sistemas agroflorestais, representando uma importante ferramenta no uso sustentável dos recursos naturais e contribuindo para a conservação ambiental (BAGGIO, 1988; MARCHINI et al., 2001; PEGORARO e ZILLER, 2003; WOLFF et al., 2007).

A identificação para o conhecimento das plantas utilizadas pelas abelhas para a sua alimentação em diferentes regiões do país pode ser feita por uma técnica específica da análise do pólen contido em amostras de mel.

A espécie de abelha *Apis mellifera* foi introduzida no Brasil no século XIX, porém, apesar de ser uma espécie exótica, é a mais conhecida e utilizada comercialmente, pois a produção de mel por estas abelhas é maior em comparação às abelhas nativas (KERR, 2001).

As abelhas sem ferrão, que são nativas, são habitantes dos trópicos, sendo que na América Latina, existem aproximadamente 300 espécies, a maioria delas produtoras de méis de grande aceitação principalmente nas regiões produtoras (CARVALHO et al., 2005). Dentre as espécies de abelhas nativas, *Tretagonisca angustula* popularmente conhecida como jataí, é a mais conhecida e criada com finalidades comerciais. Além de sua importância na polinização, seu mel é muito apreciado, gerando significativo valor comercial (NOGUEIRA-NETO, 1997; KERR, 2001). Segundo Nogueira-Neto (1997), *Scaptotrigona* sp. conhecida como tubuna é uma abelha de ampla distribuição nas Américas, embora não exista em muitas regiões.

O mel produzido pelas abelhas pode-se manter sem deterioração por longos períodos de tempo. Essa característica deve-se a sua atividade antimicrobiana, e pode variar de acordo com sua origem floral (SATO; MIYATA, 2000). Nogueira-Neto (1997) afirma que a primeira menção à presença de antibióticos em mel de meliponíneos foi realizada por Gonnet, Lavie e Nogueira-Neto em 1964.

Segundo Borsato, Cruz e Almeida (2009) a atividade antimicrobiana do mel em duas espécies de bactérias, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, foi positiva e inibiu o crescimento, porém o comportamento dos microrganismos sob variação de diferentes pólenes no mel foi diversa.

Staphylococcus aureus está no grupo dos cocos gram-positivos e pode ser encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas consideradas saudáveis, entretanto pode provocar doenças como simples infecções (furúnculos, espinhas e celulites) ou até infecções consideradas graves como pneumonia, meningite, septicemia, endocardite e outras (SANTOS et al, 2007). Conforme Tavares (2000), algumas espécies de bactérias apresentam resistência os antimicrobianos em todo o mundo, como é o caso da *Staphylococcus aureus*.

A outra bactéria em estudo, *E. coli*, é facilmente encontrada no intestino de animais, inclusive humanos. A maioria das cepas da *E. coli* não produzem danos a saúde, mas algumas podem causar doenças graves e sua transmissão se dá por alimentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2015).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se a espécie de abelha produtora e a origem floral do mel influenciam no potencial antimicrobiano.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Fazer testes antimicrobianos de amostras de mel com as bactérias *S. aureus* e *E. coli*.

Identificar o pólen contido em amostras de mel de *T. angustula*, *Scaptotrigona* sp. e *A. mellifera*;

Verificar se existe diferença na atividade antimicrobiana de amostras de mel de diferentes origens florais.

Verificar se existe diferença na atividade antimicrobiana entre amostras de mel produzidas por *T. angustula*, *Scaptotrigona* sp. e *A. mellifera*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ABELHAS, MEL E PÓLEN

As abelhas têm uma grande importância em um ecossistema, pois elas fazem a ligação entre a fauna e a flora. Elas são os principais agentes polinizadores dos vegetais e, em troca, os vegetais produzem substâncias adocicadas que atraem as abelhas, as quais levam em seus pêlos o pólen dessa planta florífera. O pólen é importante para o desenvolvimento da colméia, pois é a fonte principal de proteína das abelhas (SOUZA et al., 2007).

Segundo Kerr (2001) a produção agrícola mundial de fanerógamas é 38% dependente da polinização de abelhas. O mesmo autor afirma que em uma espécie leguminosa teve uma produtividade de 600 sementes com o uso de polinização aberta e posteriormente 13 sementes com o bloqueio da polinização.

Na polinização, os objetivos dos dois participantes, a planta e o polinizador, são semelhantes, mas cada um deles evolui de forma a maximizar seus benefícios e minimizar seus custos (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005)

Nos Estados Unidos, o benefício das abelhas no aumento de produção e qualidade através da polinização das culturas foi avaliado em 14,6 bilhões em 2000 (MORSE; CALDERONE, 2000).

Há muitas vantagens na criação de abelhas sem ferrão, uma delas é o aumento da produção relacionado com a polinização de cultivares. Segundo Nascimento (2012) na produção de sementes de pimenta doce não há necessidade de agentes polinizadores, no entanto a presença desses agentes aumenta o peso dos frutos devido há melhor polinização das flores. O mesmo autor ainda afirma que a utilização das abelhas *T. angustula* e *Scaptotrigona* sp. apresentam um grande potencial para a produção de sementes de cenoura em condições de cultivo protegido. Pelo fato dessas abelhas não terem ferrão, facilita o manuseio da colmeia em todos os estágios, desde deslocamento até a coleta do mel. Por não apresentarem perigo, pode-se manter colmeias próximo a residências e estabelecimentos com animais.

As abelhas além de ajudar o meio ambiente, também trazem outros benefícios ao homem com a comercialização e uso da produção de mel.

No Brasil, a maior produção e venda de mel é de *Apis mellifera*, espécie que foi introduzida no país para fins comerciais por sua alta produção e aceitação do mel, entretanto, a produção e comercialização do mel de abelhas sem ferrão vem aumentando e tem-se como principais espécies no Sul do Brasil a *T. angustula*, mandaçaia, manduri, entre outras (VILLAS-BÔAS, 2012). De acordo com Carvalho et al. (2005) o mel das abelhas sem ferrão apresentam uma demanda crescente de mercado com preços mais elevados que o mel do gênero *Apis*.

Não somente o mel é comercializado, da produção se tira também a própolis onde vários resultados comprovados por trabalhos científicos mostram o seu potencial para diversos usos e aplicações farmacológicas e confirmam, sem espaço para dúvidas, a sua eficácia, principalmente como antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano (PINTO; PRADO; CARVALHO, 2011).

A qualidade do mel depende de um lado de sua composição química, principalmente aos diferentes tipos de açúcares, sais minerais, proteínas e água. De outro lado, fazem parte do mel os grãos de pólen provenientes, na sua maior parte, das plantas fornecedoras de néctar, as chamadas plantas nectaríferas (BARTH, 2005). A identificação do tipo polínico presente nas amostras de mel é uma das principais maneiras de caracterizar a flora visitada pelas abelhas (MENDONÇA et al., 2008).

De acordo com Villas-Bôas (2012), as abelhas nativas, ou meliponíneos, tem ocorrência em grande parte das regiões tropicais da Terra, onde ocupam praticamente toda a América Latina e África, além do sudeste asiático e norte da Austrália. Porém, é nas Américas que grande parte da diversidade de espécies ocorre – são aproximadamente 400 tipos descritos – e que a cultura de criação destes insetos se manifesta de forma mais expressiva.

No Sul do Brasil mostram-se como principais espécies produtoras criadas a *Melipona bicolor* (Guarupú, Guaraipo), *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia), *Melipona mondury* (Mondiri) e a *Tetragonisca angustula* (Jataí). A *T. angustula* que é uma das espécies deste trabalho também aparece como uma das principais produtoras criadas nos estados de Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, assim estando presente no Sul, Sudeste e Centro Oeste do país. Já a outra espécie de trabalho (*Scaptotrigona* sp.)

tem relevância em todo o Norte do país como no Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins e também no Centro Oeste em Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (VILLAS-BÔAS, 2012).

A *T. angustula*, uma das abelhas deste estudo, segundo Ballivián et al. (2008) é uma das mais conhecidas em toda a América Tropical, vivendo desde Missiones na Argentina até ao Sul do México. O mesmo autor afirma que a tubuna (*Scaptotrigona* sp.) é uma espécie rústica. Possui excelente potencial produtivo do mel que varia de 4 a 5 litros por ano e de sabor apreciado, porém é muito agressiva comparada a outras abelhas indígenas sem ferrão.

Segundo o resultado de Simoni (2007), a *Tetragonisca angustula* mostrou uma seletividade quanto às fontes de alimento disponíveis na área de estudo. De acordo com Meneguzzo (2013), a espécie *Scaptotrigona bipunctata* é um das espécies nativas com maior representatividade e importância no que diz respeito à reprodução das espécies vegetais.

Infelizmente no Brasil somente há legislação que contemple a produção de produtos oriundos de *A. mellifera*, amparando somente os apicultores e não os meliponicultores que optam pela produção de espécies nativas. Esses méis são distintos e tem parâmetros diferentes dos que a legislação estipula, não se enquadrando nas normas estabelecidas como os da *A. mellifera*. Segundo Ballivián et al. (2008), o mel de *T. angustula* possui porcentagens superiores de água, magnésio, ferro, cálcio, potássio, entre outros, comparado com o mel de *A. mellifera*.

3.2 MICROBIOLOGIA E MICRORGANISMOS

Os usos medicinais do mel datam desde os tempos mais antigos, e recentemente ele foi redescoberto como uma terapia para ferimentos na pele (ZUMLA; LULAT, 1989; MOLAN 1998). Os interesses nesta abordagem derivam em parte pela emergência conta patógenos que se estão se tornando resistentes aos antibióticos (COOPER; MOLAN; HARDING, 1999).

Segundo Nogueira-Neto (1997) as primeiras pessoas que falaram na presença de antibióticos nos méis de Meliponíneos foram M. Gonner, Pierre Laive e Paulo Nogueira-Neto (1964). Já ao mel de abelha europeia (*Apis mellifera*) o

holandês B. A. van Ketel em 1892 foi o mentor do primeiro que mostrou que o mel possuía propriedades bactericidas.

Mais atualmente tem-se referido ao mel como que tem um efeito inibidor em cerca de 60 espécies de bactérias, dentre elas inclui-se os microrganismos aeróbios e anaeróbios, gram-positivos e gram-negativos (MOLAN, 1992).

Segundo Molan (2001), o mel é produzido pelas abelhas com fontes florais diferentes e sua atividade antimicrobiana varia com a origem e o processamento do mel.

Conforme o estudo de Borsato (2009) que utilizou de diferentes méis para seus testes antimicrobianos, em sua maioria, as amostras de mel apresentam uma atividade antimicrobiana positiva frente a *E. coli* e *S. aureus*.

Staphylococcus são cocos com gram e catalase-positivos, imóveis, não-esporulados, frequentemente não-encapsulados e tem como medida 0,5 a 1,5 de diâmetro (SANTOS et al., 2007).

Conforme Santos et al. (2007) o gênero *Staphylococcus* pertence à família Micrococcae e atualmente possui 33 espécies e dentre ela 17 podem ser isoladas em amostras biológicas humanas. Ainda segundo o mesmo autor, esse gênero encontra-se na microbiota da pele humana normais e de outros sítios anatômicos. Essa bactéria, segundo Molan (1992) é causadora de abscessos, furúnculos, e feridas infecciosas.

A antibioticoterapia iniciou-se na década de 1930, com o emprego da sulfanilamida (descoberta em 1932 por Gerard Domagk) e aparentemente começara a dar um fim nas doenças infecciosas, porém ao analisar a evolução da resistência do *S. aureus*, observa-se que já no final da mesma década surgiam as primeiras cepas resistentes a aquele quimioterápico (SANTOS et al., 2007).

Outra bactéria que causa malefícios nos humanos é a *E. coli* que tem sido identificada como causa primária de infecções no trato urinário, meningite neonatal, enterites e septicemia nosocomial (LEANDRO et al., 2013).

A *E. coli* vive nos intestinos de pessoas e animais, em sua maioria são inofensivas e, na verdade, são uma parte importante do trato intestinal humano saudável. No entanto, algumas bactérias pertencentes ao grupo *E. coli* são patogênicos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, USA, 2014).

Estudos provam o uso de mel como um antibiótico e seu uso medicinal ocorre à tempos, restando apenas verificar se esse poder antimicrobiano pode ocorrer em bactérias que afetam o ser humano diretamente mostrando assim uma saída natural para combater-las.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Todas as etapas laboratoriais da pesquisa deste trabalho de conclusão de curso foram realizadas nos laboratórios de Ecologia e Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – câmpus Campo Mourão.

4.1 AMOSTRAS DE MEL

Foram utilizadas três amostras de mel de *T. angustula*, três de *Scaptotrigona* sp e três de *A. mellifera*.

As três amostras de mel de *T. angustula* foram coletadas de caixas em uma propriedade rural do município de Campo Mourão – PR, localidade onde o principal cultivo é de verduras e legumes para a venda. Duas das três amostras foram coletadas no dia 11 de dezembro de 2013 e uma no dia 31 de janeiro de 2014. As amostras foram retiradas de três caixas distintas para cada espécie para cada espécie com auxílio de seringas, uma para cada coleta. Para ser menos prejudicial possível para a colmeia. Após a coleta, cada amostra de mel foi alocada em um pote de acrílico específico.

Das três amostras de mel de *Scaptotrigona* sp., duas foram coletadas na mesma localidade das coletas de *T. angustula* acima descrita. Essas duas coletadas no dia 31 de janeiro de 2014 e também de caixas distintas e com os mesmos cuidados. A terceira amostra foi cedida de uma propriedade localizada no município de Maringá – Paraná.

As amostras de *A. mellifera* foram adquiridas no comércio local sendo elas descritas pelos produtores como monoflorais de eucalipto, laranjeira e maçã.

Todas as amostras estão armazenadas desde a coleta sob refrigeração no Laboratório de Ecologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- câmpus Campo Mourão.

4.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE MEL

Para as análises polínicas das amostras do mel, uma alíquota de 10 gramas de cada amostra foi diluída em 20 mL de água destilada e posteriormente centrifugada para isolamento dos grãos de pólen. As amostras foram então submetidas ao método da acetólise (ERDTMAN, 1952), cujo fundamento consiste em reagir a esporolenina, de que é constituída a membrana externa do grão de pólen, com anidrido acético, em meio ácido. As lâminas, em triplicata, foram observadas ao microscópio óptico nas quais foram feitas análises qualitativas e quantitativas.

A análise qualitativa, para determinação das famílias botânicas (ou tipos polínicos) presentes nas amostras, foi realizada com base no laminário polínico das plantas da região, depositado no Laboratório de Ecologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR câmpus Campo Mourão e com base na literatura especializada. As análises quantitativas foram feitas mediante a contagem de 300 a 500 grãos de pólen por amostra (média da contagem das lâminas em triplicata) e agrupamento por famílias botânicas e/ou tipos polínicos.

A contagem de pólen é caracterizada por agrupar os tipos polínicos em quatro classes de frequência: pólen dominante (D) com presença em mais de 45% do total de grãos, pólen acessório (A) entre 16% e 45%, pólen isolado importante (I) entre 3% e 15% e pólen isolado ocasional (O) em menos de 3% (BARTH, 1989; LOUVEAUX; MAURIZIO; VORWOHL, 1978). No trabalho os valores de frequência são feitos sobre as médias das triplicatas de cada amostra.

Botões florais de plantas do local de coleta foram coletados para a complementação do laminário polínico de referência para as identificações.

4.3 MICROBIOLOGIA

4.3.1 Microrganismos

Para as análises antimicrobianas foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* (CCCD S009) e *Escherichia coli* (CCCD E004) provenientes da Coleção de Cultura Cefar Diagnóstica, obtidas nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – câmpus Campo Mourão. Com 24 horas de antecedência do início do teste antimicrobiano estas cepas foram replicadas em caldo nutriente previamente feito e autoclavado, os tubos com o caldo juntamente com as cepas foram deixados em estufa á 36°C para sua proliferação e multiplicação até o seu uso.

4.3.2 Escala Mc Farland

Para a padronização do número de bactérias vertidas nas placas usou-se a escala Mc Farland de turbidez. Uma sequencia de 11 tubos com turbidez diferente e gradual foi feita com dois compostos: cloreto de bário (0,048M BaCl₂ – 1,175% p/v BaCl₂.2H₂O) e ácido sulfúrico (0,18M – 0,36N – de H₂SO₄ 1% v/v) em diferentes concentrações (tabela 1).

Tabela 1 – Número da escala Mc Farland, concentrações dos compostos e densidade bacteriana.

Escala	Solução aquosa H ₂ SO ₄ (mL)	Solução aquosa BaCl ₂ .2H ₂ O (mL)	Densidade bacteriana milhões/mL
0,5	199,0	1,0	150
1	9,9	0,1	300
2	9,8	0,2	600
3	9,7	0,3	900
4	9,6	0,4	1200
5	9,5	0,5	1500
6	9,4	0,6	1800
7	9,3	0,7	2100
8	9,2	0,8	2400
9	9,1	0,9	2700
10	9,0	1,0	3000

Depois dos tubos prontos e devidamente enumerados, eles foram envolvidos em papel alumínio e guardados sob proteção da luz.

4.3.3 Meios de Cultura

Também com antecedência foram feitas as placas com o meio de cultura para a reprodução dos microrganismos. Foi utilizado o meio ágar Mueller –Hinton que para 1000 mL de água destilada contém Infuso de Carne (300,00 g), Hidrolisado de Caseína (17,50 g), Amido (1,50 g), Ágar (17g) e pH 7,30 podendo haver variação de 0,1 pH. Para o preparo, 21 g/L de meio de cultura foi pesado conforme as especificações do rótulo da embalagem.

O pó do meio de cultura foi transferido para um Erlenmeyer juntamente com os 1000 mL de água destilada e posteriormente foi aquecido no bico de Bunsen com agitação constante. Após o meio de cultura estar totalmente dissolvido, o mesmo foi colocado com ajuda de pipetas automáticas de 5 mL em tubos de ensaio com tampas cada um com 15 mL do caldo. Os tubos foram tampados e levados a autoclave para sua esterilização a mais de 1 atm de pressão e temperatura de 120° por 15 minutos.

Com o meio de cultura pronto e autoclavado, cada tubo de ensaio foi vertido para uma placa de petri. Um total de 33 placas de petri foram feitas com o meio. Foram embaladas em grupos de 5 e guardadas em geladeira.

4.3.4 Teste Antimicrobiano

Todo o preparo do teste antimicrobiano foi executado no Laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – câmpus Campo Mourão onde a bancada foi previamente esterilizada com álcool 70° e com luz ultravioleta ligada 20 minutos antes.

As cepas contendo as duas espécies de bactérias foram diluídas com solução salina até que sua turvação atingisse a escala 0,5 de Mc Farland para que se padronizasse a densidade de bactérias em 150 milhões por mL. Após essa diluição, as bactérias foram suspendidas sobre o ágar Muller-Hinton com o auxílio de *swabs* em toda a extensão da placa de petri, 15 placas com *S. aureus* e 15 com *E. coli*.

A técnica usada para o teste foi a dos poços, onde o ágar contido nas placas foi furado com a ajuda de um canudo plástico e retirado o ágar com ajuda de pinças esterilizadas. Cada placa conteve 4 poços, onde três foram para os méis – da mesma espécie de abelha, um de cada coleta – e um o poço para o controle negativo que foi água destilada estéril.

Ocorreu então a pipetagem de uma gota contendo cerca de 0,03 gramas de cada tipo de mel em cada poço, uma gota do controle negativo e um disco contendo o antibiótico Amoxicilina para ser o controle positivo.

Após esse processo concluído as placas foram embaladas com papel filme e levadas a estufa microbiológica com uma temperatura de 36°C para o crescimento ou não das bactérias. Os halos foram medidos após seis horas em estufa com o auxílio de paquímetro digital e os dados utilizados foram a média de três medições do mesmo halo na mesma hora.

4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatística foram feitas com o auxílio de dois *Softwares*: BioEstat 5.3 (AYRES *et al.*, 2007) e o Past (HAMMER, HARPER e RYAN, 2001). *Softwares* de análises estatísticas disponibilizados na internet.

Para ver a normalidade de todos os dados foi optado pelo índice Shapiro-Wilk. Para analisar a similaridade polínica entre as amostras de mel utilizou-se índice de Bray-Curtis. Já para os diâmetros dos halos, usou-se a ANOVA: um critério, e quando o p foi inferior a 0.05 o índice Tukey também foi usado. Nas análises gerais dos halos em frente as bactérias foi usado o Teste t: Amostras Independentes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE POLÍNICA

Foram identificados 13 tipos polínicos nas três amostras de mel de *T. angustula*. Apenas na amostra 1T houve presença de pólen dominante (mais de 45% da totalidade de pólenes) *Alchornea* sp. 1 (tabela 2).

Tabela 2 – Análise polínica das amostras de mel onde $D \geq 45\%$ do total de grãos, $45\% < A \leq 16\%$, $15\% \leq I > 3\%$ e $O \leq 3\%$.

Família	Tipos polínicos	Análise polínica							
		<i>T. angustula</i>			<i>Scaptotrigona</i> sp.			<i>A. mellifera</i>	
		1T	2T	3T	1S	2S	3S	1A	2A
Euphorbiaceae	<i>Alchornea</i> sp. 1	D	A	A	-	-	-	-	-
	<i>Alchornea</i> sp. 2	-	-	A	-	-	-	-	-
	<i>Sebastiania</i>	-	-	-	-	-	O	I	-
	Euphorbiaceae	-	-	-	A	-	-	-	-
Alliaceae	<i>Allium</i>	I	A	A	-	-	-	-	-
Brassicaceae	<i>Raphanus</i>	O	-	I	-	-	-	-	A
Apiaceae	<i>Daucus</i>	I	-	-	-	-	-	-	-
Asteraceae	Tipo <i>Bidens</i>	O	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Mikania</i>	-	A	-	-	-	-	-	-
	Asteraceae sp. 1	-	-	-	O	-	O	I	-
Fabaceae	<i>Parapiptadenia rigida</i>	O	O	-	A	A	-	O	A
	<i>Senegalia</i> sp.	-	-	-	-	A	-	-	-
Oleaceae	<i>Ligustrum</i>	-	A	O	-	O	-	-	-
Boraginaceae	<i>Cordia</i>	-	A	-	-	-	-	-	-
Mimosaceae	<i>Leucaena</i>	-	-	O	-	-	-	-	-
Rosaceae	<i>Rosaceae</i> sp.	-	-	O	-	-	-	-	-
Anacardiaceae	<i>Schinus</i>	-	-	-	-	O	I	O	-
Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i>	-	-	-	A	A	D	D	-
	Tipo <i>Eugenia</i>	-	-	-	-	-	-	-	A
Sapindaceae	<i>Matayba</i>	-	-	-	-	-	A	-	-
Rutaceae	<i>Citrus</i>	-	-	-	I	-	-	-	A
Piperaceae	<i>Piperaceae</i> sp. 1	-	-	-	-	A	-	-	-
Asteraceae	<i>Centratherum</i>	-	-	-	-	-	-	-	I
Não identificado	X	O	-	O	-	-	-	-	-

Na amostra 2T, cinco dos seis tipos polínicos estão na faixa de 45 a 16% dos pólenes. Na amostra 3T houve a maior quantidade de diferentes tipos polínicos, sendo nove dos 13 identificados nas três amostras. Apenas dois tipos polínicos são encontrados nas três amostras: *Alchornea* sp. 1 e *Allium*.

Segundo Heard (1999), o raio de voo da *T. angustula* atinge entre 100 e 400m e na propriedade onde essas amostras de mel foram coletadas há plantação de cebolinha, mostrando assim que essa planta também agrada essa espécie de abelhas.

Nas amostras de *Scaptotrigona* sp. observou-se 11 tipos polínicos. Apenas e uma amostra obteve-se dominância de uma espécie, o *Eucalyptus* que também foi a única espécie que está presente nas três amostras de mel.

Oriundo da Austrália, o eucalipto possui uma gama de cerca de 600 espécies adaptadas a diversas variações de solo e clima. Admite-se que as primeiras espécimes foram plantadas no Rio Grande do Sul 1868 (MORA; GARCIA, 2000).

Ferreira, Manente-Balestieri e Balestieri (2010) mostram em um estudo que há uma estreita ligação da espécie do gênero *Scaptotrigona* com alguns grupos da flora, destacando entre eles o *Eucalyptus* sp. que foi fundamental para a manutenção da colônia durante um ano inteiro. Mostra-se assim que espécies vegetais introduzidas competem na polinização com espécies nativas.

O fato do mel que é produzido e comercializado em alta escala, como o da *A. mellifera*, é centrifugado e peneirado faz com que o pólen fique retido nesses processos, isso seria uma explicação para a falta de pólen em uma amostra. As duas amostras onde ocorre pólen são do mesmo fabricante, o que induz a crer que o processo que o mel passa é diferente da outra amostra.

Barth (1989 apud Zander e Maurizio, 1975) afirma que méis puros subrepresentados em pólen de *Citrus* tem entre 10 e 20% do total de pólenes. Méis subrepresentados são plantas que fornecem muito néctar, mas pouco pólen por isso a quantidade de pólen detectada é pequena. Ainda os mesmos autores afirmam que méis puros super-representados em pólenes de *Eucalyptus* sp devem conter mais de 90% do total dos pólenes. Méis super-representados são os que fornecem pouco néctar e muito pólen, ou seja, a ocorrência desse pólen em grande quantidade representa pouco néctar.

Na amostra 1A mostra-se que a dominância é de *Eucalyptus* como o fabricante afirma e mostra-se que pode se enquadrar nos méis puros. Na amostra 2A os *Citrus* estão com 16 a 45% do total dos pólenes, o que também pode-se enquadrar nos méis monoflorais (LOUVEAUX; MAURIZIO; VORWOHL, 1978).

A única espécie encontrada nas duas amostras é a *Parapiptadenea rigida*, nativa, que é encontrada pelo Sul e Sudeste do Brasil juntamente com Mato Grosso do Sul, sua flor é amarela e a floração é de janeiro a março e de setembro a dezembro (INSTITUTO DE PESQUISA E ESTUDOS FLORESTAIS, 2015).

A tabela 3 mostra os dados gerais dos méis, onde se analisa sua diversidade e homogeneidade das amostras.

Tabela 3 – Dados de cada amostra sendo A - abundância, D – dominância segundo Lobo e Leighton (1986). Amostras 1A e 2A são de *A. mellifera* monofloral de Eucalipto e Laranja consecutivamente. As amostras 1S, 2S e 3S são do mel de *Scaptotrigona* sp. e as amostras 1T, 2T e 3T são de *T. angustula*. Amos: Amostra. Riq: Riqueza. N.G.C.: Número de grãos contados. Diver: diversidade. Diver. Máx: Diversidade Máxima. Hom: Homogeneidade.

Amos.	Riq.	N.G.C.	A	D	Diver.	Diver. Máx.	Hom.
1A	5	910	<i>Eucalyptus</i>	<i>Eucalyptus</i>	0,514	2,321	0,163
2A	5	1026	<i>Parapiptadenea</i> <i>Citrus</i>	-	1,42	2,321	0,453
1S	4	2942	<i>Eucalyptus</i> <i>Parapiptadenea</i> Euphorbiaceae sp.1	-	1,245	1,999	0,397
2S	6	1709	<i>Eucalyptus</i> <i>Senegalia</i> Piperaceae	-	1,488	2,584	0,474
3S	5	1487	<i>Eucalyptus</i> <i>Matayba</i>	<i>Eucalyptus</i>	0,816	2,321	0,260
1T	7	1466	<i>Alchornea</i> sp.1	<i>Alchornea</i> sp.1	0,721	2,807	0,230
2T	6	1405	<i>Ligustrum</i> <i>Alchornea</i> sp.1 <i>Mikania</i> <i>Allium</i>	-	1,594	2,584	0,508
3T	9	1047	<i>Alchornea</i> sp.1 <i>Allium</i> <i>Alchornea</i> sp. 2	-	1,879	3,169	0,599

Observa-se que a amostra que tem a maior riqueza é a amostra 3T com 9 tipos polínicos em sua amostra.

Segundo Lobo e Leighton (1986), a abundância de uma espécie se dá quando o total de indivíduos da mesma espécie for maior que a média do número total de indivíduos da amostra. Com isso tem-se que a amostra mais abundante é a 2T, com 4 espécies abundantes.

O mesmo autor afirma que a dominância de uma espécie é quando a abundancia relativa for superior a 50% da totalidade de indivíduos, ou seja, quando uma espécie tiver numericamente mais da metade do total dos indivíduos. Com isso, temo que das amostras, apenas três tem dominância, sendo uma delas a 1A com o *Eucalyptus*, que é a amostra qual o produtor diz ser monofloral de Eucalipto.

O índice de diversidade (Shannon-Wiener) foi calculado com o auxílio do *Software Past* e *BioEstat 5.3*. Esse índice dá os valores de diversidade, diversidade máxima e homogeneidade. Segundo o próprio *Software BioEstat 5.3* (2015), esse índice estima a diversidade das variáveis de uma população e as proporções de cada uma destas variáveis. Uma população com mais homogeneidade nas proporções é atribuída a maior equitabilidade, que é a uniformidade da dominância.

Com base nesses dados temos que as amostras 3T e 2T são as mais homogêneas das amostras e as mais diversas, mostrando assim que a *T. angustula* pode alimentar-se de mais tipos diferentes de pólen e com a mesma quantia, podendo não ter uma preferencia de alimentação das opções que detém o local.

No teste de similaridade entre as amostras, mostrou-se que as mais similares, com relação ao conteúdo polínico são as três de *T. angustula* como pode ser visto no gráfico 1.

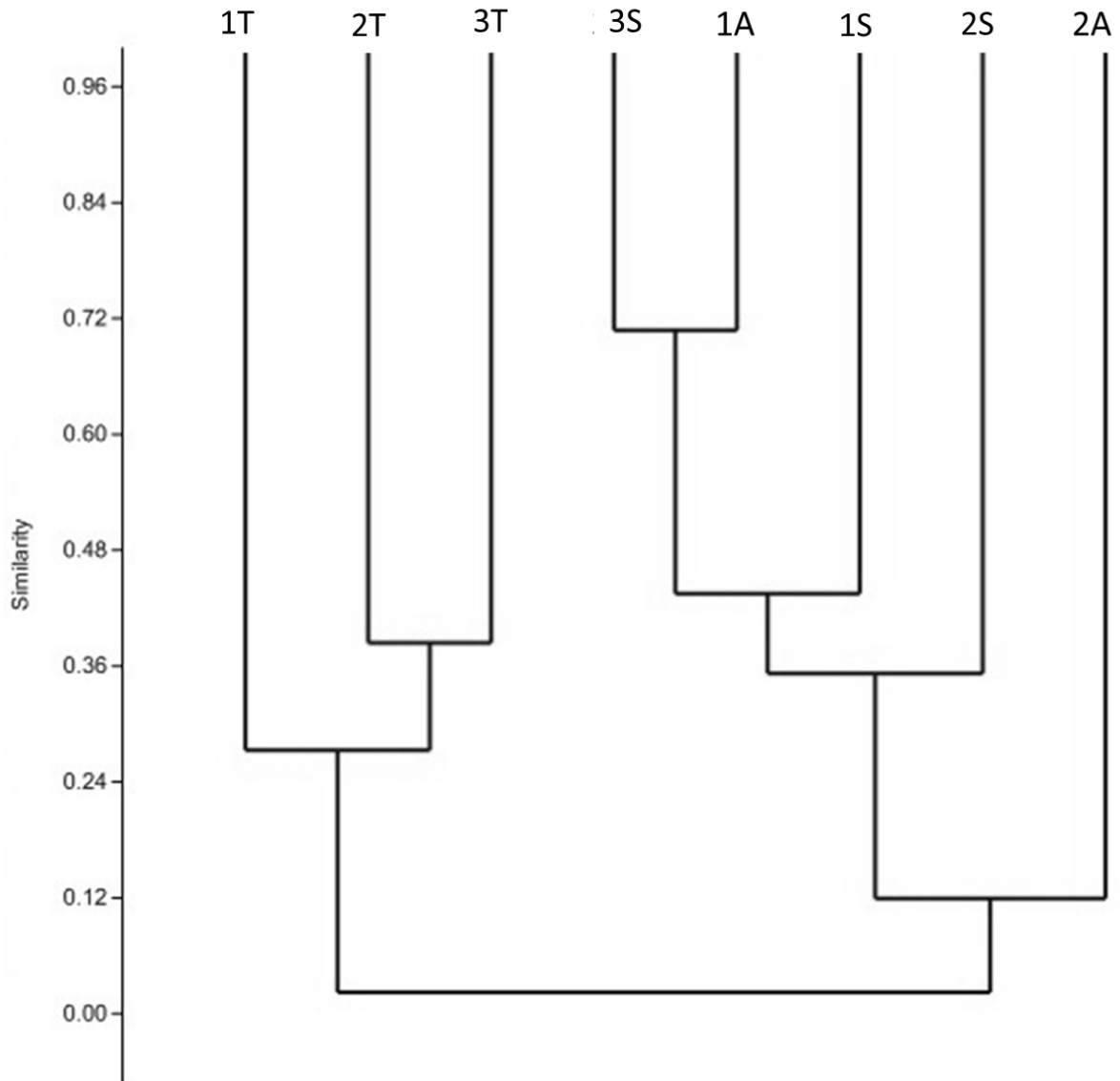


Gráfico 1 – Teste de similaridade Bray-Curtis dos tipos polínicos encontrados em amostras de mel de *Apis mellifera* (1A e 2A), *Tetragonisca angustula* (1T, 2T e 3T) e *Scaptotrigona* sp. (1S, 2S e 3S).

Fonte: Software Past, 2014

Para o gráfico usou-se o índice de Bray-Curtis, que varia de zero a 1, para ver a similaridade das amostras. Dois grandes grupos foram obtidos, um com as amostras de *T. angustula* e outro com as amostras de *A. mellifera* e *Scaptotrigona* sp. Observa-se também que as amostras de *A. mellifera* são do mesmo grupo, porém distintas dentro do grupo onde a monofloralidade pode ser a causa. As amostras 1A e 3S são as mais similares e elas têm em comum a dominância de *Eucalyptus* (Tabela 5).

5.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

5.2.1 Atividade Antimicrobiana em *Staphylococcus aureus*

Na tabela 6 estão listados os valores médios dos halos de inibição antimicrobiana frente a *S. aureus* com seus desvios padrões das amostras de mel das três espécies de abelhas juntamente com o valor médio e o desvio padrão do controle positivo de Amoxicilina.

Tabela 6 – Valores médios e desvio padrão de halos de ação antimicrobiana de mel frente e *S. aureus*.

Amostra	<i>T. angustula</i>	<i>Scaptotrigona</i> sp.	<i>A. mellifera</i>
1	11,08 ± 0,88	12,71 ± 0,72	11,32 ± 0,72
2	11,23 ± 2,38	13,51 ± 1,43	13,56 ± 2,29
3	10,89 ± 1,19	10,66 ± 2,34	12,32 ± 2,03
Amoxicilina	19,05 ± 0,54	18,65 ± 0,43	19,95 ± 0,33

No gráfico 2 observa-se a variação de halos de todas as amostras de mel frente a *S. aureus*

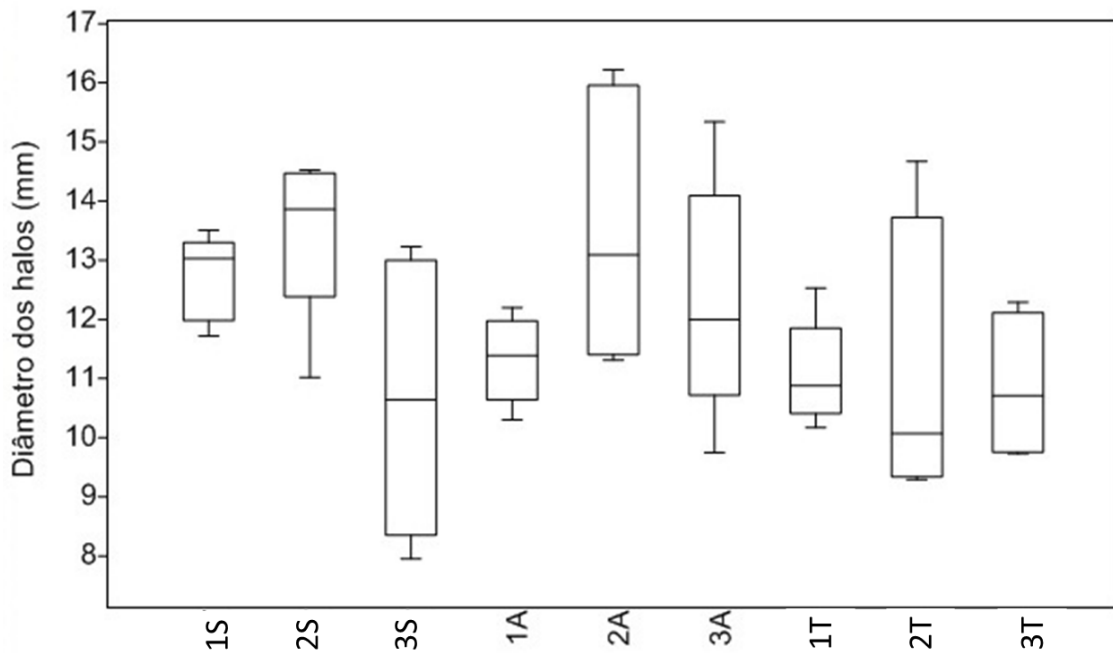


Gráfico 2 – Diâmetro dos halos de inibição (média, máximo e mínimo), obtidos no teste de sensibilidade de *Staphylococcus aureus* frente ao mel de *Apis mellifera* (1A, 2A e 3A), *Scaptotrigona* sp. (1S, 2S e 3S) e *Tetragonisca angustula* (1T, 2T e 3T).

Fonte: Software Past, 2015

Aplicou-se o teste de variação ANOVA e constatou-se que não houve diferença entre as amostras de mel de *A. mellifera* ($p=0,1914$). O mesmo aconteceu para as amostras de *T. angustula* ($p=0,9440$).

Com a amostra de *Scaptotrigona* sp. constatou-se uma diferença entre as amostras. Utilizou-se o teste estatístico ANOVA: um critério e posteriormente o índice de Tukey que mostrou que há uma variação entre os halos ($F=3,8866$, $P=0,0491$ e $GL=2$). Houve diferença apenas entre as amostras 2S e 3S ($p<0,05$). Essa diferença pode ser devido à florada dos méis. De acordo com a tabela 3, a amostra 2S tem 4 tipos polínicos acessórios: *Eucalyptus*, *Parapiptadenia rígida*, *Senegalia* sp. e *Piperaceae* sp. 1 e somente o *Eucalyptus* está presente nas três amostras de mel.

A classificação de méis pode ser monofloral ou inifloral quando sua origem é de apenas um espécie de planta, bifloral quando sua origem é de duas espécies e heterofloral, polifloral ou mel silvestre quando é proveniente de várias espécies de plantas. As propriedades do mel de várias espécies são muito variáveis e estão

relacionadas com a espécie de abelha que o produz, plantas utilizadas e fatores climáticos. Devido ao grande território do país, há uma enorme variedade de méis e não se podem generalizar suas características (Barth, 2004).

Segundo Camargo et al. (2006) não somente um fator, mas vários fatores e suas interações são responsáveis pela ação antimicrobiana do mel. Porém Lusby, Coombes e Wilkinson (2005) mostram que a atividade antibacteriana está ligada a origem floral do mel.

Os dados dos halos frente a *S. aureus* também foram submetidos a análise de variância ANOVA: um critério pelo *software* BioEstat 5.3, onde obteve-se um $p=0,0914$, sendo não significativo. O tamanho dos halos foram muito próximos (gráfico 3), mostrando que não há variação entre as espécies de abelhas e a atividade bacteriana.

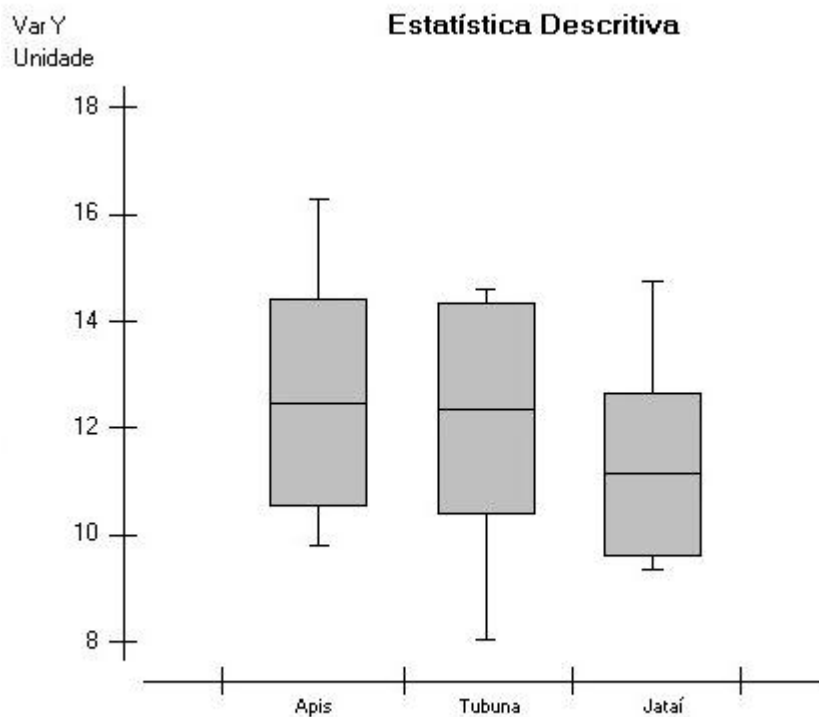


Gráfico 3 – Análise descritiva dos diâmetros dos halos de inibição formados por mel de *Apis mellifera*, *Tetragonisca angustula* (jataí) e *Scaptotrigona* sp. (tubuna) frente a *S. aureus*.

Fonte: *Software Past*, 2015

Segundo Bazoni (2012) o mel da abelha nativa *Nannotrigona testaceicornis* possui atividade antimicrobiana frente a bactéria *S. aureus*. Borsato et al. (2003) também afirmam que méis das nativas *T. angustula* e *Scaptotrigona* sp. são eficientes frente a mesma bactéria. Umada (2014) também confirma o poder antimicrobiano da abelha nativa *T. angustula* frente a bactéria *S. aureus*. Para a espécie *Apis mellifera*, Peralta (2010) afirma que também há atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, sendo que 50 entre 53 amostras de *A. mellifera* deram resultados positivos quanto à inibição da bactéria.

Já Golçalves, Alves Filho e Menezes (2005) afirmam que *S. aureus* é resistente ao suposto poder antimicrobiano do mel *Nannotrigona testaceicornis*.

5.2.2 Atividade Antimicrobiana em *Escherichia coli*

A tabela 7 dá os valores médios dos halos de inibição antimicrobiana frente a *E. coli* com seus desvios padrões das amostras de mel das três espécies de abelhas juntamente com o valor médio e o desvio padrão do controle positivo de Amoxicilina.

Tabela 7 – Valores médios e desvio padrão de halos de ação antimicrobiana de mel frente a *E. coli*.

Amostra	<i>T. angustula</i>	<i>Scaptotrigona</i> sp.	<i>A. mellifera</i>
1	11,17 ± 3,24	11,54 ± 1,08	9,25 ± 0,59
2	13,92 ± 2,17	11,63 ± 2,94	8,54 ± 1,10
3	12,19 ± 1,32	9,56 ± 1,00	9,19 ± 0,73
Amoxicilina	17,74 ± 1,35	18,16 ± 0,46	18,33 ± 0,61

No gráfico 4 observa-se a variação de halos de todas as amostras de mel frente a *E. coli*.

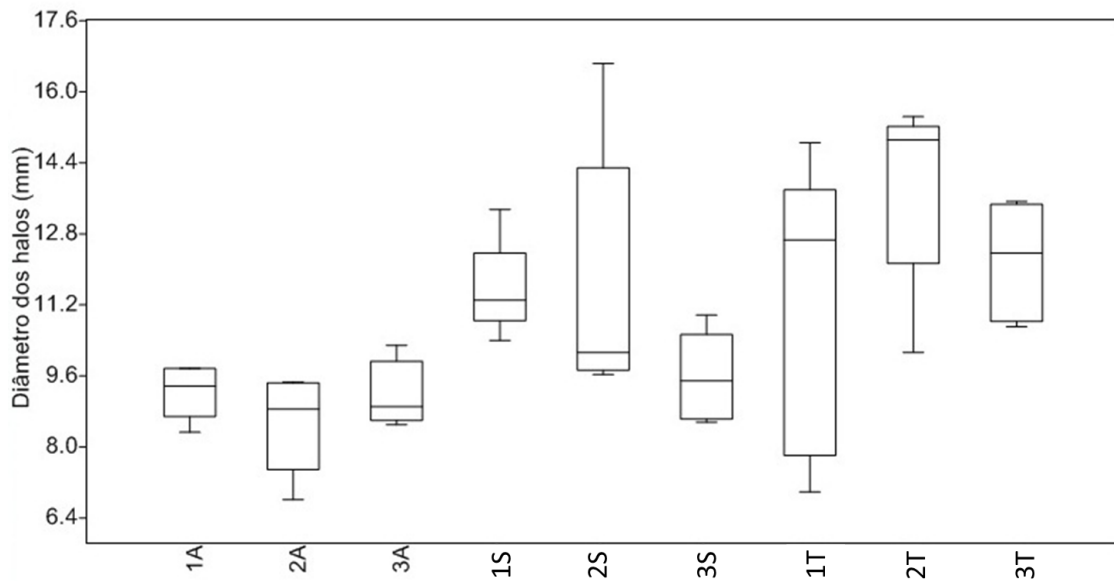


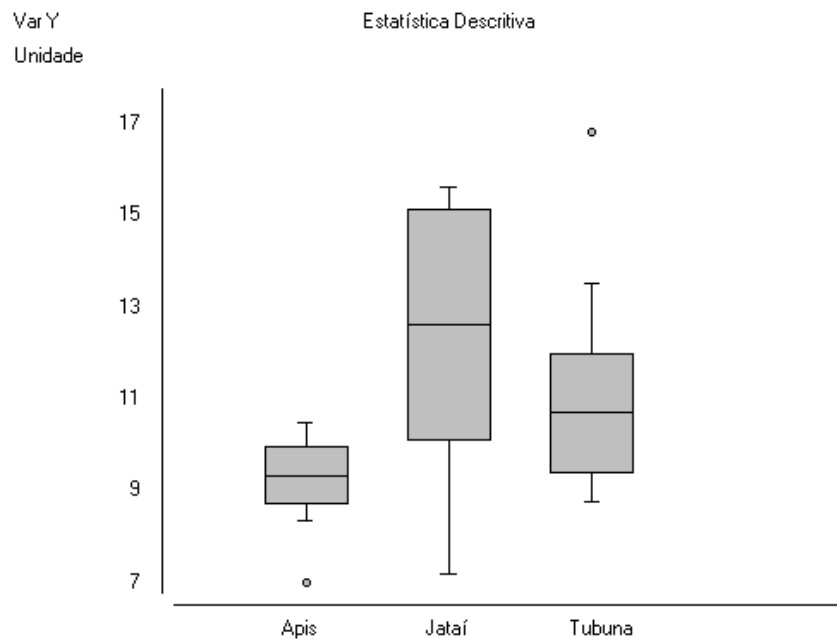
Gráfico 4 – Diâmetro dos halos de inibição, média, máximo e mínimo, obtidos no teste de sensibilidade ao mel de *Apis mellifera* (1A, 2A e 3A), *Scaptotrigona* sp. (1S, 2S e 3S) e *Tetragonisca angustula* (1T, 2T e 3T).

Fonte: Software Past, 2015

Não houve diferença no diâmetro dos halos de inibição em amostras produzidas pela mesma espécie de abelha. Utilizando-se para as três amostras de cada espécie de abelha o teste ANOVA com um critério, foram obtidos os valores de p: para as amostras de *Apis mellifera* ($p=0,3651$), para *T. angustula* ($p= 0,2221$) e para *Scaptotrigona* sp. ($p=0,1915$). Confirmando assim que estatisticamente não há variação de halo de inibição frente a *E. coli* dentro das espécies de abelhas.

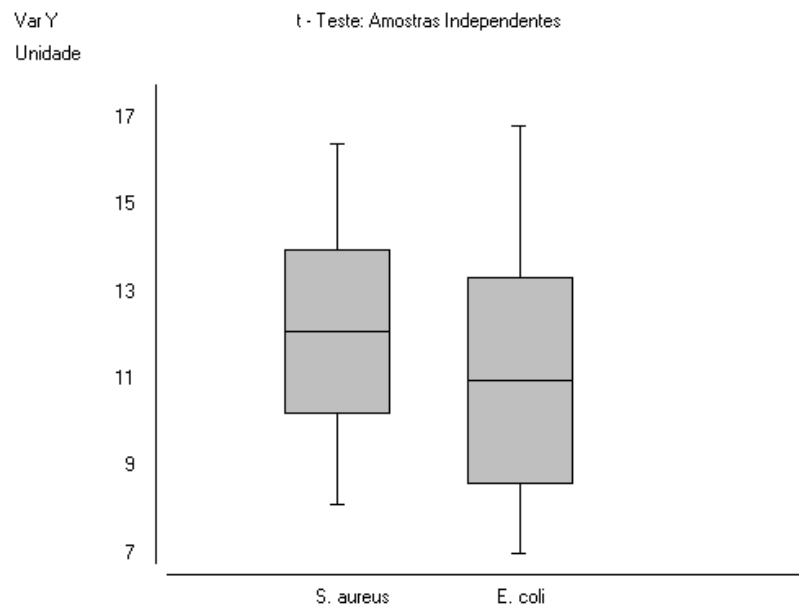
Os dados dos halos de inibição dos méis de diferentes espécies de abelhas frente a *E. coli* também foram submetidos a análise. Aplicou-se o índice Kruskal-Wallis pelo software BioEstat 5.3, onde obteve-se um $p=0,0001$, indicando que existe diferença entre as amostras. As amostras de *A. mellifera* foram as mais distintas entre as três ($R=178$), bem abaixo de *T. angustula* ($R=479,5$) e de *Scaptotrigona* sp. ($R=377,5$). Não houve diferença de potencial antimicrobiano entre as duas espécies de abelhas nativas. No gráfico 5 observa-se que a menor média e os menores halos são da amostra de *A. mellifera*, abelha exótica introduzida, mostrando assim que esta espécie é menos eficaz na atividade antimicrobiana em comparação com a *Scaptotrigona* sp. e *T. angustula* que são duas abelhas nativas sem ferrão.

Peralta (2010), Borsato (2009) e Gonçalves (2005) afirmam que em seu estudo houve a atividade antimicrobiana frente a *E. coli*. Borsato (2013) e Nishio et al. (2014) afirmam em seus estudos que com a técnica de poços - difusão em ágar, o mel também possuem atividade antimicrobiana frente a *E. coli*.



**Gráfico 5 – Análise descritiva dos diâmetros dos halos de inibição formados por mel de *Apis mellifera*, *Tetragonisca angustula* (jataí) e *Scaptotrigona* sp. (tubuna) frente a *E. coli*.
Fonte: Software BioEstat 5.3, 2015**

Todos os halos de inibição frente a *E. coli* e a *S. aureus* foram confrontados pelo Teste t: Amostras Independente, mostrou que no geral a *S. aureus* obtém uma média maior de halos e, sendo assim, é mais suscetível a inibição por mel do que a *E. coli* (gráfico 6). Resultado diferente foi encontrado por Gonçalves, Alves-Filho, Menezes (2005), que verificaram que, com mel de *Nannotrigona testaceicornis* *E. coli* foi sensível e *S. aureus* resistente. Martini et al. (2014) afirma que o poder antimicrobiano do mel de *Tetragonisca angustula* apresentou variação frente a *S. aureus* e *E. coli*, mas obteve inibição das duas bactérias.



**Gráfico 6 – Diâmetros dos halos de inibição formados pela ação do mel frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.
Fonte: Software BioEstat 5.3, 2015**

6 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos neste trabalho, observou-se que a abelha da espécie *T.angustula* é menos seletiva e coleta néctar de uma variedade maior de plantas do que as abelhas *Scaptotrigona* sp.

Verificou-se o potencial antimicrobiano em todas as amostras de mel. Observou-se diferença significativa apenas as amostras de *Scaptotrigona* sp. frente a *S. aureus*, esse resultado pode indicar uma diferença no halo devido aos tipos polínicos diferentes, porém mais estudos devem ser feitos diante a outras variações que os méis possuem.

Verificou-se que a bactéria *S. aureus* mostrou ser mais sensível ao mel que *E. coli*, e que ocorre variação entre as espécies de abelhas quanto à ação antimicrobiana frente à *E. coli*

REFERÊNCIAS

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A.A. **Bioestat – Aplicações estatísticas nas área de ciências bio-médicas**. Ong Mamiraua. Belém, PA. 2007.

BAGGIO, Amilton João. Aroeira como potencial para usos múltiplos na propriedade rural. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 17, p.25-32, 1988.

BALLIVAN, José Manuel P. Palazuelos et al. **Abelhas nativas sem ferrão**. São Leopoldo: Oikos, 2008.

BARTH, Ortrund Monika. 1989. **O pólen do mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Luxor, 226p.

BARTH, Ortrund Monika.; Melissopalynolgy in Brazil: a review of pollen analysis os honeys, própolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 31, p. 342-350, 2004.

BARTH, Ortrund Monika. Análise polínica de mel: avaliação de dados e seu significado. **Mensagem Doce 81**. 2005. Disponível em <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/81/artigo.htm>> Acesso em: 23 jan. 2014

BAZONI, Matheus de Oliveira. **Atividade antimicrobiana dos méis produzidos por *Apis mellifera* e abelhas sem ferrão nativas do Brasil**. 2012. 116f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

BORSATO, Débora Maria; CRUZ, Michele Cristina Rodriguez da; ALMEIDA, Mareci Mendes de. Atividade antimicrobiana de méis comercializados na região dos Campos Gerais – Paraná. **Visão Acadêmica**. Curitiba, v. 10, n. 1, jun. 2009.

BORSATO, Débora Maria; ESMERINO, Luís Antônio; FARAGO, Paulo Vitor; MIGUEL, Marilis Dallarmi; MIGUEL, Obdulio Gomes. Stividade antimicrobiana de méis produzidos por meliponíneos nativos do Paraná (Brasil). **B. CEPPA**. v. 31, n. 1, p. 57-66. 2013.

CAMARGO, Ricardo Costa Rodrigues de; PEREIRA, Fábila de Mello; LOPES, Maria Teresa do Rêgo; WOLFF, Luiz Fernando. Mel: Características e propriedades. **Embrapa, documento 150**. Teresina, Piauí. 2006.

CARVALHO, Carlos Alfredo Lopes de; SOUZA, Bruno de Almeida; SODRÉ, Geni da Silva; MARCHINI, Luis Carlos; ALVES, Rogério Marcos de Oliveira. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. 1 ed. Bahia, 2005.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, USA. General Information. **E. coli**. Atlanta, USA. Disponível em <
<http://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>>. Acesso em 06 jan. 2015.

COOPER, R. A.; MOLAN, Peter C.; HARDING, K. G. Antibacterial activity of honey again strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. **Journal of the royal society of medicine**. v. 92, p 283-285, 1999.

ERDTMAN, Gunnar. **Pollen morphology and plant taxonomy- Angiosperms**. Stockholm: Almqvist e Wiksel, 539 p, 1952.

FERREIRA, Marcos G.; MANENTE-BALESTIERI, Fátima C. D.; BALESTIERI, José B. P. Pólen Coletado por *Scaptotrigona depilis* (Moure) (Hymenoptera, Meliponini), na região de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 52, n. 2, p. 258-262, 2010.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Atividade antimicrobiana do mel da abelha nativa sem ferrão *Nannotrigona testaceicornis* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). **Arq. Inst. Biol.** v. 72, n. 4, p. 455-459, 2005.

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P. D. **PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis**. Palaeontologia Electronica. 2001.

HEARD, T. A. The role of stingless bees in crop pollination. **Annu. Rev. Entomol.** v. 44, p 183-206, 1999.

INSTITUTO DE PESQUISA E ESTUDOS FLORESTAIS. **Identificação de espécies florais**. Piracicaba – São Paulo. Disponível em <
<http://www.ipef.br/identificacao/nativas/detalhes.asp?codigo=13>> Acesso em 10 jan. 2015.

KERR, Warwick Estevam; CARVALHO, Gislene Almeida; SILVA, Alexandre Coletto da; ASSIS, Márcia da Glória Paiva de. Aspectos pouco mencionados na

biodiversidade amazônica. **Parcerias Estratégicas**, n.12, p.20, 2001. Disponível em <http://www.cgee.org.br/arquivos/pe_12.pdf> Acesso em: 08 dez. 2013.

LEANDRO, Livia Maria Garcia et al. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória de extratos metanólico e hexânico da casca de *Sideroxylon obtusifolium*. **E-ciência**. v. 1, n. 1, 2013.

LOBO, Eduardo; LEIGHTON, Gerardo. Estructuras comunitárias de las fitocenosis planctónicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile. **Revista de Biología Marina**. v. 22, n. 1, p 1-29, 1986.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. Methods of melissopalynology. **Bee World**. v. 59, p. 139-157, 1978.

LUSBY, Patrícia E.; COOMBES, Alexandra L.; WILKINSON, Jenny. Bactericidal activity os diferente honey against pathogenic bacteria. **Archives of Medical Research**. v. 36, p. 464-467, 2005.

MARCHINI, Luís Carlos; MORETI, Augusta Carolina de Camargo Carmello. TEIXEIRA, Erica Weinstein.; SILVA, Etelvina Conceição Almeida da; RODRIGUES, Ricardo Ribeiro; SOUZA, Vinicius Castro. Plantas visitadas por abelhas africanizadas em duas localidades do estado de São Paulo. **Sciencia Agricola**. v. 58, n. 2, p.413-420, 2001. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/sa/v58n2/4436.pdf>> Acesso em: 08 dez. 2013.

MARTINI, Ivane Castelane; MANICA, Emanuel; SANTOS, Juliana dos, PAIVA, Fernanda Alves de; OLIVEIRA, Vanessa Ecléa; BILIBIO, Denise. Atividade antimicrobiana do mel de abelha jataís (*Tetragonisca angustula*) frente às bactérias relacionadas à mastite bovina. **XXIV Congresso Brasileiro de Zootecnia**. 2014.

MENDONÇA, Kiára; MARCHINI, Lupis C.; SOUZA, Bruno de A.; ALMEIDA-ANACLETO, Daniela de; MORETI, Augusta C. de C. C. Plantas Apícolas de Importância para *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) em Fragmento de Cerrado em Itirapina, SP. **Neotropical Entomology**. v. 37, n. 5, p 513-521, 2008.

MENEGUZZO, Maísa Karla. **Fontes de alimentos usadas por abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em áreas campestres da floresta densa montana, no sul de Santa Catarina**. 2013. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso superior em Ciências Biológicas. Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL. Quem viaja ao exterior deve evitar alimentos crus e reforçar hábitos de higiene. **Profissional e Gestor**. Brasília, 2015. Disponível em: < <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/profissional-e-gestor/vigilancia/links-vigilancia?start=570>>. Acesso em: 05 jan. 2015.

MOLAN, Peter C. A brief review of the use of honey as a clinical dressing. **Primary Intention**. v. 6, n. 4, p. 148-158, 1998

MOLAN, Peter C. The antibacterial activity of honey. The nature of the antibacterial activity. **Bee mundi**. v. 73, n. 1, p 5-28, 1992.

MOLAN, Peter. C., Potential of honey in the treatment of wounds and burns. **American Journal of Clinical Dermatology**, Wales, v.1, p. 13-19, 2001.

MORA, Admir Lopes; GARCIA, Carlos Henrique. **A Cultura do Eucalipto no Brasil**. São Paulo – SP, 2000.

MORSE, Roger; CALDERONE, Nicholas. The value of honeybees as pollinators of U.S. crops in 2000. **Bee Culture**, v. 132, n. 3, p.1-15, 2000.

NASCIMENTO, Warley Marcos; GOMES, Eliana Marília L.; BATISTA, Elizabeth A.; FREITAS, Raquel A. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. **Horticultura brasileira**. v. 30, n. 3, p. 494-498, 2012.

NISHIO, Erick Kenji; KRUPINISKI, Mariane Trizotti; KOBAYASHI, Renata Katsuko Takayama; PRONI, Edson Aparecido; NAKAZATO, Gerson. Avaliação da atividade antibacteriana de dois méis de abelhas indígenas sem ferrão contra bactérias de importância alimentar. **Blucher Food Escuence Proceedings**. v. 1, n. 1, 2014.

NOGUEIRA-NETO, Paulo. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. ed. única. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997.

PEGORARO, Adhemar; ZILLER, Silvia Renate. Valor apícola das espécies vegetais de duas fases sucessionais da Floresta Ombrófila Mista, em União da Vitória, Paraná-Brasil. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 47, p. 69-82, 2003. Disponível em <<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/boletim/boletarqv/bolet47/pag-69-82.pdf>> Acesso em: 07 dez. 2013.

PERALTA, Edna Dória. **Atividade antimicrobiana e composição química de méis do estado da Bahia**. 2010. 265 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.

PINTO, Luciana de Matos Alves; PRADO, Ney Robson Taironi do; CAVALHO, Lucas Bragança de. Propriedades, usos e aplicações da própolis. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. VIII (3), p. 76-100, 2011.

RUPPERT, Edward E.; FOX, Richard S.; BARNES, Robert D. **Zoologia dos invertebrados : uma abordagem funcional-evolutiva**. 7.ed. São Paulo: Roca, 2005.

SANTOS, André Luis dos; SANTOS, Dilvani Oliveira; FREITAS, Cícero Carlos de; FERREIRA, Bruno Leal Alves; AFONSO, Ilídio F.; RODRIGUES, Carlos Rangel; CASTRO, Helena C. *Staphulococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Bras. Patol. Med. Lab.** v. 43, n. 6, p. 413-423, dez. 2007.

SATO, Tomoio; MIYATA, Go. The Nutraceutical Benefit, Part III: Honey. **Nutritional Pharmaceuticals**. Estados Unidos da América, p. 468-469, 2000.

SIMONI, L.C.; D'APOLITO-JÚNIOR, C.; RECH, A.R.; BALESTIERI, J.B.P.; MANENTE-BALESTIERI, F.C.L. Espécies de plantas visitadas por *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Meliponinae), em Corumbá, Mato Grosso do Sul. Anais: **VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, 2007. Disponível em < <http://seb-ecologia.org.br/viiiiceb/pdf/1321.pdf> > Acesso em 24 jan. 2014.

SOUZA, Darklê Luiza; EVANGELISTA-RODRIGUES, Adriana; PINTO, Maria do Socorro de Caldas. As abelhas como agentes polinizadores. **REDVET, Revista electrónica de Veterinaria**, v. VIII, n. 3, 2007.

TAVARES, Walter. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 33, n. 3, p. 281-302, jun. 2000.

UMADA, Murilo Keith. **Potencial antimicrobiano correlacionado as características físico-químicas de amostras do mel de *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (HYMENOPTERA: APIDAE) produzido no estado do Paraná**. 2014. 88f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

VILLAS-BÔAS, Jerônimo. **Manual tecnológico, mel de abelhas sem ferrão**. 1 ed. Brasília, 2012. Disponível em < http://www.ispn.org.br/arquivos/mel008_31.pdf> Acesso em: 23 jan. 2014.

WOLFF, Luis; CARDOSO, Joel; SCHWENGBER, José; SCHIEDECK, Gustavo. Sistema agroflorestal apícola envolvendo abelhas melíferas, abelhas indígenas sem ferrão, aroeira-vermelha e videiras em produção integrada no interior de Pelotas-RS: um estudo de caso. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1236-1239, 2007.

ZUMLA, A. LULAT, A. Honey – A remedy rediscovered. **Journal of the Royal Society of Medicine**. v. 82, p. 284-285, jul. 1989.