

## MICOBOITA DO MEL E POLÉN PRODUZIDO POR ABELHAS EM MELIPONÁRIOS INSTALADOS NO HORTO ZOOBOTÂNICO DA CIDADE DO RECIFE- PERNAMBUCO

José Henrique Serafim Batista da Silva<sup>1</sup>; Neiva Tinti de Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Ciências Biológicas/Ambientais- CCB – UFPE; E-mail: jh.serafim@hotmail.com,

<sup>2</sup>Neiva Tinti de Oliveira/pesquisador do Depto de Micologia – CCB – UFPE. E-mail: netinti@hotmail.com.

**Sumário:** Este estudo foi realizado com o objetivo de conhecer a diversidade de fungos em amostras de mel e pólen de abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris* no Horto Zoobotânico (Recife - PE). As amostras de mel e pólen foram coletadas diretamente nos potes de armazenamento no interior das caixas de criação. Um total de 12 amostras de cada substrato foram coletadas. Após o isolamento e identificação, observou-se que o maior número de isolados de fungos foi obtido do mel. A espécie de levedura com maior ocorrência foi *Kodamaea ohmeri* (11%), enquanto entre os fungos filamentosos a espécie *Aspergillus sclerotiorum* (7,7%) foi mais ocorrente. O presente trabalho pode fornecer subsídios para manejo na criação desses insetos sociais e produção do mel e na prospecção de novos isolados de fungos de interesse biotecnológico.

**Palavras-chave:** Abelhas sem ferrão; Fungos; Identificação; *Melipona scutellaris*.

### INTRODUÇÃO

Abelhas sem-ferrão (Apidae: Meliponini) pertencem ao grupo mais importante e diverso de abelhas tropicais eussociais, sendo o clado mais abundante do mundo. São popularmente conhecidas como “abelhas sem ferrão”, porque possuem seus acúleos (ferrão) atrofiados (Nogueira-Neto, 1997). Os meliponíneos realizam o trabalho da polinização de diversas espécies de plantas cultiváveis contribuindo com bilhões de dólares para a economia tropical a cada ano (Klein et al., 2007; Nadia et al., 2007). A distribuição das abelhas sem ferrão no Brasil depende das características climáticas e florísticas de cada região, e sua criação regulamentada pelo CONAMA por meio da Resolução nº 346, de 06 de julho de 2004, sendo denominada Meliponicultura, praticada em cortiços ou em caixas de madeira para produção de mel. A meliponicultura é uma atividade bastante difundida nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, tendo o mel, assim como na apicultura, como principal produto valorativo de exploração (Alves et al. 2007). O mel, juntamente com os demais produtos das abelhas, está associado a uma imagem de produto natural, saudável e limpo (Bogdanov, 2006), sendo atribuídas a ele propriedades medicinais e atividade antimicrobiana, geralmente relacionadas às suas características físicas e químicas (Molan, 1999). Polén são os grãos encontrados nas anteras dos estames florais que, em geral, tem coloração amarela. As abelhas dependem essencialmente do néctar, mas o principal alimento proteico para as adultas e as larvas é o pólen, que nos estados da região Nordeste recebe o nome de saburá ou samburá (Nogueira-Neto, 1997). Grande variedade de organismos pode estar associada a abelhas, como bactérias (Cruz-Landim 1996), fungos (Gilliam; Roubik; Lorenz, 1990), ácaros (Eickwort, 1990) e inclusive outros insetos (Melo, 1996). Há necessidade de mais informações sobre comportamento, reprodução e sanidade das abelhas sem ferrão, sendo o estudo da microbiota um dos aspectos importantes e pouco estudados na biologia desses insetos (Ferraz et al., 2008). A microbiota do mel pode ser dividida em dois grupos: os inerentes ao mel, e os de contaminação secundária. Estes estão diretamente relacionados à extração e ao beneficiamento. Os micro-organismos de

importância são primariamente leveduras, fungos filamentosos e bactérias formadoras de esporos (Silva et al, 2008). Apesar do interesse nesse tema devido a possibilidade de estudos relacionados à biologia e ecologia, na maioria dos trabalhos de prospecção os isolados de fungos não são identificados em nível de espécie e em outros casos se limitam apenas a contagem de unidades formadoras de colônias ( UFC ) ( Souza et al. 2009).

### MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta foi realizada no meliponário localizado no Parque Estadual Dois Irmãos (Recife-PE) que é mantido com a ajuda da Associação Pernambucana de Apicultores e Meliponicultores (APIME). Foram utilizadas caixas de criação da abelha *Melipona scutellaris*. A amostragem foi realizada com o planejamento: 3x3x4, sendo três caixas de criação, três potes de pólen e de mel em quatro coletas mensais. Após a desinfestação externa dos potes, as amostras de pólen foram coletadas com auxílio de espátulas e o mel pela sucção com seringas descartáveis. As amostras foram armazenadas em tubos de Eppendorf de 1,5 mL e mantidas em caixas isotérmicas até o processamento no laboratório, realizado em até no máximo 24h. No processamento do pólen, foi pesado 1g em balança analítica e posteriormente foi realizada uma suspensão em 9 mL de água peptonada acrescida de cloranfenicol (0,02g). Em seguida, 1 mL da suspensão foi semeado em triplicata em placa de Petri contendo o meio Agar extrato de malte (MEA) e meio Agar dicloran glicerol 18% (DG18%). No processamento do mel, uma alíquota de 1 mL foi diluída em 9 mL de água peptonada acrescida de cloranfenicol (0,02g) obtendo-se a diluição de  $10^{-1}$ . O procedimento para plaqueamento foi o mesmo adotado para o pólen. Todas as placas foram incubadas por 48-72h a 35° no escuro. A identificação morfológica dos fungos filamentosos foi baseada na literatura específica, como Ellis (1976), Klich (2002), Hesseltine e Fennel (1995), Samson e Pitt (2000), dentre outros. Para as leveduras, foram adotados os critérios preconizados por Kurtzman et al. (2011) que se baseiam em provas morfológicas e fisiológicas. Para avaliação das comunidades foram determinadas a frequência de ocorrência, e abundância relativa. A frequência de ocorrência ( $F_i$ ) das espécies foi estimada segundo a equação:  $F_i = J_i/k$ , onde  $F_i$  = frequência de ocorrência da espécie  $i$ ,  $J_i$  = número de amostras nas quais a espécie  $i$  ocorreu,  $K$  = número total de amostras. A abundância relativa de cada espécie foi calculada aplicando-se a fórmula:  $D_i = (N_i/N) \times 100$ , onde  $D_i$  = abundância de espécie  $i$ ;  $N_i$  = número de UFC da espécie  $i$ ;  $N$  = número total de UFC. De acordo com esta fórmula, as abundâncias relativas das espécies são classificadas como:  $<0,5\%$  = rara,  $\geq 0,5 < 1,5\%$  = ocasional,  $\geq 1,5 < 3,0\%$  = comum,  $\geq 3,0\%$  = abundante (Schnittler; 2000).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas quatro coletas, e em cada coleta foram obtidas doze amostras de mel e doze de pólen. Como observado na Tabela 1, no mel, dentre os fungos filamentosos, foram identificados dois gêneros: *Aspergillus* e *Lichtheimia* e a espécie com maior frequência foi *Aspergillus tamarii* (4,7%). Para as leveduras oito gêneros: *Blastobotrys*, *Candida*, *Kodamaea*, *Pichia*, *Priceomyces*, *Starmerella*, *Trichosporon* e *Wickerhamomyces* foram registrados e a espécie com maior ocorrência foi *Kodamaea ohmeri* (11%). No pólen foram identificados três gêneros de fungos filamentosos, *Aspergillus*, *Lichtheimia* e *Monascus* e a espécie com maior frequência foi *Aspergillus sclerotiorum* (7,7%). Para as leveduras quatro gêneros foram registrados: *Blastobotrys*, *Candida*, *Pichia*, e *Trichosporon* e a espécie com maior ocorrência foi *Candida powellii* (8,5%).

Tabela 1. Frequências relativas, absolutas e classificação da abundância das espécies de fungos isoladas em amostras de mel e pólen das abelhas sem ferrão *Melipona scutellaris* do Horto de Dois Irmãos – Recife – PE.

Fungos	Fa	fr %	MEL	PÓLEN	ABUNDÂNCIA
<i>Blastobotrys attinorum</i>	10	2,770	X		Comum
<i>Blastobotrys terrestris</i>	15	4,155	X	X	Abundante
<i>Candida apícola</i>	30	8,310	X		Abundante
<i>Candida intermedia</i>	22	6,094	X		Abundante
<i>Candida powellii</i>	31	8,587	X	X	Abundante
<i>Kodamaea ohmeri</i>	40	11,080	X		Abundante
<i>Pichia guilliermondii</i>	25	6,925	X	X	Abundante
<i>Pichia manshurica</i>	21	5,817	X	X	Abundante
<i>Priceomyces melissophilus</i>	37	10,249	X		Abundante
<i>Starmerella bombicola</i>	20	5,540	X		Abundante
<i>Starmerella meliponinorum</i>	30	8,310	X		Abundante
<i>Trichosporon sp.</i>	1	0,227	X	X	Rara
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	10	2,770	X		Comum
<i>Aspergillus niger</i>	12	3,324		X	Abundante
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	28	7,756		X	Abundante
<i>Aspergillus tamaritii</i>	17	4,709	X	X	Abundante
<i>Lichtheimia hyalospora</i>	10	2,770	X	X	Comum
<i>Monascus sp.</i>	2	0,554		X	Ocasional
<b>TOTAL</b>	<b>361</b>				

Como observado na Tabela 1 o isolado pertencente ao gênero *Trichosporon* foi considerado raro. Esse gênero, que é caracterizado pela formação de artroconídios, blastoconídios, hifas e pseudo-hifas compreende inúmeras espécies que habitam diferentes nichos ecológicos naturais. Espécies de *Trichosporon* podem ser encontradas na água, solo e superfície corpórea de humanos e animais. São consideradas espécies que essencialmente ocupam nichos ecológicos não vertebrados, mas que possuem habilidade relativamente pronunciada de sobreviver em tecidos de organismos vertebrados, desenvolvendo micoses oportunistas superficiais e profundas.

### CONCLUSÕES

Fungos podem ser encontrados no mel e pólen de *Melipona scutellaris*; As espécies de fungos ocorrentes no mel e pólen foram: *Blastobotrys attinorum*; *Blastobotrys terrestris*; *Candida apícola*; *C. intermedia*; *C. powellii*; *Kodamaea ohmeri*; *Pichia guilliermondii*; *P. manshurica*; *Priceomyces melissophilus*; *Starmerella bombicola*; *S. meliponinorum*; *Trichosporon sp.*; *Aspergillus niger*; *A. sclerotiorum*; *A. tamaritii*; *Lichtheimia hyalospora*; *Monascus sp.* e *Talaromyces diversus*; O gênero *Candida* e o gênero *Aspergillus* foram os de maior frequência entre as leveduras e os fungos filamentosos respectivamente; Os resultados obtidos neste estudo fornecem informações importantes sobre a microbiota do mel e pólen das abelhas sem ferrão de colmeias instaladas no Horto de Dois Irmãos como também podem subsidiar futuras pesquisas sobre o potencial biotecnológico desses isolados.

### AGRADECIMENTOS

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/Propesq UFPE.  
 Ao Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas – UFPE.  
 À Associação Pernambucana de Apicultores e Meliponicultores – APIME.

A meu co-orientador, o mestre Renan Nascimento pela contribuição.

## REFERÊNCIAS

- Alves, E.M, Toledo, V.A.A, Marchini, L.C., Sereia, M.J., Moreti A.C.C.C., Lorenzetti, E.R., Neves, C.A., Santos, A.A. 2009. Presença de coliformes, bolores e leveduras em amostras de mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas do alto eio Paraná. *Ciência Rural* 39:2222-2224.
- Cruz-Landim, C. 1996. Bacteria presente in the intestinal trato f *Melipona quadrifasciata anthioides* lepeletetier (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *J. Hym. Res.* 5:264-272.
- Eickwort, G.C. 1990. Association of mites with social insects. *Annu. Rev. Entomol.* 35:469-488.
- Ellis, M.B.1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Kem: Commonwealth Mycological Institute.
- Ferraz, R.E., Lima P.M., Perreira, D.S., Alves, N.D., Feijó, F.M.C. 2008. Microbiota Fúngica de Abelhas sem Ferrão (*Melipona subnitida*) da região Semi-árida do Nordeste Brasileiro.
- Gilliam, M., Roubik, D., Lorenz, B. 1990. Microorganismo associated with pollen, honey and brood provision in the nest of a singless bee, *Melipona fasciata*. *Apidology* 21:89-97.
- Governo do Estado de Pernambuco – Parque de Dois Irmãos, Agosto de 2015. Disponível em:<<http://www.portaisgoverno.pe.gov.br/web/parque-dois-irmaos/>>. Acesso em 10 de agosto de 2015.
- Hesseltine, C.W., Fennel, D.I. 1995. The genus *Circinella*. *Mycologia*, 7:193-211.
- Klein, A.M., Vaissiere, B.L., Cane, J.H., Steffan’Dewenler, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharrhtke, T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Prot. R. Soc. Biol. Sci. Ser. B* 2/4, 303-313.
- Klich, M.A. 2002. Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Kurtzman, C.; Fell, J.W.; Boekhout, T. The yeasts: A taxonomic study. 5. ed. Amsterdam: Elsevier Science, 2011. 2384 p.
- Melo, G.A.R. 1996. Notes on the nesting biology of *Melipona capixaba* (Hymenoptera, Apidae). *J. Kansas Entomol. Soc.* 69:207-210.
- Nadia, T.L.; Machado, I.C.; Lopes, A.V. 2007. Partilha de polinizadores e sucesso reprodutivo de *Spondia tuberosa* e *Ziziphus joazeiro*, espécies endêmicas da caatinga. *Revista Brasileira de Biociências*, 5:357-359.
- Nogueira-Neto, P., 1997. *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão*. Ed. Nogueirapis, São Paulo.
- Schnitler, M., Stephenson, S.L. 2000. Myxomycetes biodiversity in for different forest types in Costa Rica. *Mycologia* 92:626-637.
- Snowdon, J. A; Cliver, D. O. Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, v. 31, n. 1-3, p. 1-26, 1996.
- Souza, B.A., Marchini, L.C., Dias, C.T.S., Oda-Souza, M., Carvalho, C.A.L., Alves, R.M.O. 2009. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29:798-802.