

UNIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO – UFRPE UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA – UAST BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Maíra Beserra Barbosa de Souza

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS EM COLMEIA DE Melipona mandacaia

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS EM COLMEIA DE Melipona mandacaia

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Prof. Hélio Fernandes de Melo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal Rural de Pernambuco Sistema Integrado de Bibliotecas Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S729p Souza, Maíra Beserra Barbosa de

Prospecção de bactérias em colmeia de Melipona mandacaia / Maíra Beserra Barbosa de Souza. - 2022. 47 f. : il.

Orientador: Helio Fernandes de Melo. Inclui referências e anexo(s).

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, 2022.

1. Abelhas indígenas. 2. Mandaçaia. 3. Ácidos orgânicos. 4. Microrganismos. I. Melo, Helio Fernandes de, orient. II. Título

CDD 574

PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS EM COLMEIA DE Melipona mandacaia

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como requisito obrigatório à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em 07 de outubro de 2022

Banca Examinadora

Ma. Ana Luiza da Silva (Supervisora, UAST/UFRPE) 1º titular (Presidente)

Dra. Cynthia Maria Carneiro Costa (Examinador interno, UAST/UFRPE) 2º titular

Dra. Cássia Lima Silva Gusmão (Examinador interno, UAST/UFRPE) 3º titular

AGRADECIMENTOS

A Deus que me permitiu estudar em uma universidade pública e viver a experiência de morar numa outra cidade.

A minha família, mas em especial a minha mãe e a minha avó, que são as mulheres da minha vida, grandes exemplos de força e determinação.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade de cursar Ciências Biológicas.

Ao professor e orientador Dr. Hélio Fernandes de Melo pela paciência e os ensinamentos transmitidos durante esse tempo, minha eterna gratidão.

Aos professores e professoras do Curso de Ciências Biológicas pela dedicação em nossa formação.

A professora Ma. Ana Luiza da Silva pela supervisão no estágio obrigatório e por sempre se mostrar disposta em nos ajudar.

A todos os amigos que fiz durante essa jornada que participaram das minhas alegrias e tristeza, serviram de apoio e consolo nos momentos difíceis. Ter vocês foi fundamental, muito obrigada!

Ao grupo PET Biologia/ UAST a quem sou muita grata por todo o apoio e pela contribuição na minha formação como estudante.

RESUMO

A Melipona mandacaia é uma espécie de abelha sem ferrão restrita ao bioma da Caatinga que oferece importância econômica e ambiental. Entretanto, condições bióticas e abióticas tornam as abelhas mais suscetíveis a ataques de patógenos. É sabido que muitos microrganismos fornecem proteção às abelhas e auxiliam na formação de seus produtos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é realizar a prospecção de bactérias produtoras de ácidos orgânicos a partir da glicose. Assim, amostras de mel, pólen, geoprópolis e lixo de abelhas foram coletadas, armazenadas e levadas ao laboratório para analise. Para determinar a qualidade microbiológica das amostras, 1mL de cada produto foi diluída em 9mL de salina (diluição 10⁻¹) e a partir disso foi realizado diluições seriadas que posteriormente foram semeadas em meio de cultura ágar Sabouraud (AS) e agar nutriente (AN), sendo que mel e polén foram semeados em ambos os meios, porém o lixo de abelha e o geoprópolis só foram semeados em AN. Os microrganismos semeados foram para a estufa e ficaram durante 48h em 35°C para os isolados em AN e os isolados em AS foram para a estufa por 48h a 30°C. Após esse procedimento, foi feito a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Os microrganismos isolados em AN passaram pelo Teste Vermelho de Metila (VM) para verificar a produção de ácidos orgânicos. A partir do teste VM verificou-se que os microrganismos isolados das amostras de Lixo de abelha e mel produziram ácidos orgânicos a partir da glicose. Portanto, os dados obtidos revelou que microrganismos isolados de produtos da colmeia de Melipona mandacaia podem apresentar atividade antimicrobiana. Assim, ressalta-se a importância de estudar a microbiota associada a abelhas sem ferrão.

Palavras-chave: abelhas indígenas; mandaçaia; ácidos orgânicos; microrganismos.

ABSTRACT

Melipona mandacaia is a stingless bee species restricted to the Caatinga biome that offers economic and environmental importance. However, biotic and abiotic conditions make bees more susceptible to pathogen attacks. It is known that many microorganisms provide protection to bees and help in the formation of their products. Thus, the objective of this work is to carry out the prospection of bacteria producing organic acids from glucose. Thereby, samples of honey, pollen, geopropolis and trash of bees were collected, stored and taken to the laboratory for analysis. To determine the microbiological quality of samples 1mL of each product was diluted in 9mL of saline (10⁻¹ dilution) and from that, serial dilutions were performed, which were later seeded in Sabouraud agar culture medium (SA) and nutrient agar (NA) being that honey and pollen were sown in both media, but the trash of bees and geopropolis were only sown in NA. The sown microorganisms were placed in the oven and kept for 48 hours at 35°C for the NA isolates and the SA isolates were placed in the oven for 48 hours at 30°C. After this procedure, the Colony Forming Units (CFU) were counted. The microorganisms isolated in NA underwent the Red Methyl Test (RM) to verify the production of organic acids. From the RM test, it was verified that the microorganisms isolated from the bee and honey garbage samples produced organic acids from glucose. Therefore, the data obtained revealed that microorganisms isolated from *Melipona mandacaia* hive products may have antimicrobial activity. Thus, the importance of studying the microbiota associated with stingless bees is emphasized.

Keywords: indigenous bees; mandaçaia; organic acids; microorganisms.

LISTA DE TABELA

TABELA 1 – Classificação de abelhas sem ferrão	15
TABELA 2 - Amostras e seus respectivos códigos e números de n	nicrorganismos
isolados obtidos de M. mandacaia	23
TABELA 3 - Contagem em de Unidades de Formadoras de Colôr	nias (UFC) em
placa de Petri de diferentes grupos de micro-organismos por grama	a de diferentes
substratos em colmeias de M. mandacaia	25

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Melipona mandacaia	18
FIGURA 2 - Amostras coletadas de pólen, mel, lixo de abelhas e geoprópol	is (A) e
Colônia de <i>Melipona mandacaia</i> (B)	20
FIGURA 3 – Esquema da diluição seriada e inoculação da amostra	21
FIGURA 4 – Plaqueamento das diluições	22
FIGURA 5 - Isolados de Mel (A), Pólen (B), Geoprópolis (C) e Lixo de abelha	(D) em
meio de cultura para Teste VM	22
FIGURA 6 - Amostras de Lixo de abelhas (A) Mel (B) positivas para teste VM	27
FIGURA 7 - Isolados de Mel (A), Pólen (B), Geoprópolis (C) e Lixo de abe	lha (D)
após a aplicar o Teste VM	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Interações simbióticas entre microrganismos e abelhas	12
2.2 Abelhas sem ferrão	14
2.3 Melipona mandacaia	18
3 METODOLOGIA	
3.1 Área de estudo	20
3.2 Coleta das amostras	20
3.3 Isolamento e purificação das bactérias e leveduras	21
3.4 Prova vermelho de metila (VM)	
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	
4.1 Microrganismos isolados	
4.2 Caracterização morfológica	
4.3 A produção de ácidos orgânicos	
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	
6 REFERÊNCIAS	
ANEXOS	

1 INTRODUÇÃO

A simbiose é uma associação persistente e íntima de organismos que pertencem a diferentes espécies (FELDHAAR, 2011). Esta interação entre indivíduos foi fundamental para a origem das principais formas de vida na Terra e no surgimento da diversidade biológica (MORAN, 2006).

Microrganismos simbióticos estabelecem associações complexas com insetos sociais, podendo assumir inúmeras formas (MENEGATTI et al., 2020; MORAN, 2006). Por exemplo, em abelhas sem ferrão (Meliponini) estudos indicam que os microrganismos são responsáveis por fazer a pré-digestão do pólen ajudando na produção de pão de abelha ou pela formação do mel (MORAIS; CALAÇA; ROSA, 2012). Esses microrganismos também podem apresentar compostos antimicrobianos, protegendo as abelhas de patógenos (PAULA et al., 2021).

A microbiota intestinal de abelhas podem apresentar bactérias acidófilas, incluindo espécies do gênero Lactobacillus (MCFREDERICK et al., 2012). Os lactobacilos fazem parte do grupo de bactérias ácido láticas, sendo responsáveis por produzir compostos antimicrobianos, como os ácidos orgânicos (VASQUEZ et al., 2012).

As abelhas sem ferrão ocupam regiões tropicais e subtropicais, elas representam o grupo mais abundante e diverso de abelhas corbiculadas (PAULA et al., 2021). A grande maioria das espécies de Meliponini fazem seus ninhos em cavidades preexistentes, usando o cerume como material básico para a construção (MELO, 2020).

Os principais polinizadores de espécies vegetais nativas do Brasil são os Meliponini (SILVA; RAMOS, 2021). As abelhas deste grupo são responsáveis por polinizar espécies de plantas da Caatinga (30%), Pantanal (30%) e Mata Atlântica (90%) (PEREIRA; SOUZA; LOPES, 2017). Além da polinização, as abelhas sem ferrão fabricam mel, própolis e geoprópolis, produtos com grande importância econômica (SILVA; PAZ, 2012).

No nordeste, uma das espécies de abelhas sem ferrão que mais se destaca é a *Melipona mandacaia* (Mandaçaia) (VILLAS-BÔAS; MALASPINA, 2005). Endêmica do semiárido brasileiro (BIANCO; CAZENAVE-TAPIE, 2016), a Mandaçaia é uma espécie que possui papel importante na manutenção da biodiversidade (ALVES et al., 2016), pois contribui na perpetuação de plantas nativas, assim como serve para

contribuir com a renda de trabalhadores locais (ALVES; SOUZA; CARVALHO, 2007).

No entanto, apesar de se mostrarem relevantes, grande parte da pesquisa sobre a microbiota das abelhas foi realizada em abelhas da tribo Apini e, em menor quantidade, em abelhas da tribo Bombini, mas há muito pouco conhecimento sobre as abelhas sem ferrão (TOLA et al., 2021), em especial Melipona mandacaia.

Ademais, a mandaçaia habita num ambiente que sofre com condições ambientais adversas e ações antrópicas (ALVES; SOUZA; CARVALHO, 2007). Aliado a isso fatores ambientais abióticos e bióticos, tornam as abelhas mais suscetíveis a inimigos naturais, como patógenos (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, 2017).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é realizar a prospecção de bactérias produtoras de ácidos orgânicos, a partir da glicose, de componentes da colmeia de *Melipona mandacaia*. Visto a íntima ligação entre microrganismos e abelhas, bem como a importância da espécie *Melipona mandacaia* e as poucas pesquisas atreladas ao conhecimento de sua microbiota, é extremamente importante o desenvolvimento de estudos que ajudem a ampliar o conhecimento sobre a microbiota desta espécie.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Interações simbióticas entre microrganismos e abelhas

O surgimento e a diversificação dos microrganismos ocorreram antes da formação dos grandes organismos multicelulares (MORAN, 2006). Nesse sentido, a interação entre micróbios, como bactérias e outros organismos, evoluíram e beneficiaram os hospedeiros em diferentes aspectos, como lidar com patógenos invasores e auxiliar na digestão e absorção de nutrientes (FELDHAAR, 2011).

Desse modo, os organismos multicelulares têm sido envolvidos em interações complexas com os microrganismos (MORAN, 2006). A relação entre insetos e microrganismos exemplifica o sucesso deste tipo interação simbiótica (CONTI; GUIMARÃES; PUPO, 2012).

Os insetos abrigam um surpreendente número de microrganismos simbiontes (CONTI; GUIMARÃES; PUPO, 2012). Estima-se que até 20% de todos os insetos estejam obrigatoriamente associados a microrganismos simbióticos, sendo atribuído ao seu sucesso evolutivo a sua capacidade de se envolver a parceiros microbianos (FELDHAAR; GROSS, 2009).

Devido ao seu papel funcional como polinizadores na maioria dos ecossistemas, as abelhas representam um grupo de insetos ecologicamente e economicamente importantes (LEONHARDT; KALTENPOTH, 2014). No entanto, os insetos sociais estão expostos a diversos fatores ambientais abióticos e bióticos, tornando maior sua suscetibilidade contra inimigos naturais, como patógenos (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, 2017). Assim, sua abundância e riqueza têm diminuído, prejudicando os serviços de polinização para as espécies vegetais (LEONHARDT; KALTENPOTH, 2014).

Nesse sentido, a comunidade microbiana associada a abelhas recebeu considerável atenção (LEONHARDT; KALTENPOTH, 2014), pois os microrganismos simbióticos têm demonstrado a capacidade de produzir substâncias com alto potencial biológico, capaz de ajudar os hospedeiros na defesa contra patógenos (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, 2017), bem como na aquisição de nutrientes (LEONHARDT; KALTENPOTH, 2014).

As colônias de abelhas possuem uma microbiota diversificada que inclui bactérias, leveduras, fungos filamentosos e vírus (PAULA et al., 2021). A contaminação microbiana pode ocorrer devido à microbiota da própria abelha

(LIEVEN et al., 2012) assim como serem introduzidos por elas ao entrarem em contato com o pólen, poeira, ar e flores (OLAITAN; ADELEKE; OLA, 2007).

As bactérias e leveduras são metabolicamente ativas nos ninhos de abelhas, pois suas características fisiológicas que incluem a produção de enzimas, fermentação de açúcar e produção de ácidos orgânicos, são compostos essenciais para a transformação de pólen e néctar (PAULA et al., 2021).

Os microrganismos cultiváveis associados às abelhas sem ferrão são, em sua maioria, bactérias (NGALIMAT et al., 2020). Nas abelhas sociais, as bactérias simbióticas podem manter a homeostase e a aptidão da colônia (LEONHARDT; KALTENPOTH, 2014).

Num estudo realizado por ENGEL, Engel, Martinson e Moran (2012), foi feito o sequenciamento do metagenoma da microbiota intestinal de 150 abelhas (*Apis melífera*). Eles encontraram uma notável quantidade de diversidade genética nas poucas espécies bacterianas que ocupam o intestino das abelhas. Segundo os mesmos autores, a análise comparativa do conteúdo gênico sugere que diferentes espécies possuem papéis distintos ligadas à interação com o hospedeiro, formação de biofilme e degradação de carboidratos. Assim, enquanto as duas primeiras funções podem ser críticas para a defesa e imunidade de patógenos, a última pode ajudar no uso de nutrientes (ENGEL; MARTINSON; MORAN, 2012).

Nesse contexto, Evans et al. (2006) sugere que a pequena flexibilidade imunológica das abelhas reflete a força das barreiras sociais contra doenças e patógenos.

As bactérias que costumam ser associadas a colônias de abelhas sem ferrão são classificadas nos gêneros Bacillus, Streptomyces e Lactobacillus (NGALIMAT et al., 2020). Diversas espécies de Bacillus e Bactérias Ácido Láticas (BAL) apresentam características probióticas, sugerindo assim seu potencial terapêutico (PAULA et al., 2021).

Bactérias que formam esporos pertencentes ao gênero Bacillus são comumente associadas a espécies de abelhas sem ferrão (NGALIMAT et al., 2020). As espécies deste gênero são bastante conhecidas por secretar várias enzimas extracelulares, além de serem produtoras de antibióticos e ácidos graxos (GILLIAN; ROUBIK; LORENZ, 1990).

Bacillus meliponotrophicus foi encontrado associado a espécies do gênero Trigona e Melipona, esta relação mostrou-se obrigatória, visto que o uso de antibióticos/estreptomicina no alimento levou ao desaparecimento da colônia (MORAIS; CALAÇA; ROSA, 2012).

Assim, as espécies de Bacillus podem participar da conversão de alimentos em produtos mais digeríveis para armazenamento, bem como no controle de microrganismos concorrentes que causam deterioração do alimento (GILLIAN; ROUBIK; LORENZ, 1990).

As bactérias ácido láticas (BAL), especialmente as que pertencem aos gêneros Lactobacillus e Bifidobacterium, também foram descritas para várias espécies de abelhas, incluindo abelhas sem ferrão (LEONHARDT; KALTENPOTH, 2014).

As abelhas possuem uma microbiota BAL diversificada, adquirida pelo consumo de pólen e néctar e através do contato com abelhas mais velhas da colônia (MATHIALAGAN *et al.*, 2018).

Os autores Leonhardt e Kaltenpoth (2014) encontraram BAL em todas as três espécies analisadas (*Austroplebeia australis*, *Tetragonula carbonaria*, e *Tetragonula hockings*i), mostrando que estas bactérias são compartilhadas por diferentes espécies de abelhas sem ferrão.

Um dos mais importantes gêneros dentro das BAL é Lactobacillus, que são frequentemente encontrados entre as espécies de abelhas (VASQUEZ et al., 2012). Esse grupo tem sido alvo de vários estudos devido a suas propriedades ligadas à saúde, sendo frequentemente exploradas como probióticos em alimentos industrializados (BURITI; CARDARELLI; SAAD, 2008).

Em seu estudo, Vásquez e Olofsson (2009) demonstram que provavelmente as bactérias ácido láticas são responsáveis pela transformação do pólen em pão de abelha. Além disso, eles sugerem que a presença dessas bactérias e suas substâncias antimicrobianas protegem as abelhas contra doenças. As substâncias antimicrobianas secretadas pelas BAL envolvem ácidos orgânicos, proteínas, enzimas e peptídeos (VÁSQUEZ et al., 2012).

2.2 Abelhas sem ferrão

A ordem Hymenoptera é uma das maiores ordens da classe insecta com cerca de 120 mil espécies. Entre os himenópteros mais conhecidos estão as formigas, as saúvas e as abelhas (BUZZI, 2005).

As abelhas estão incluídas na superfamília Apoidea que, por sua vez, é formada por várias famílias, sendo a família Apidae a que possui hábitos sociais mais avançados (NOGUEIRA-NETO, 1997). Dentre as abelhas de hábitos sociais, têm-se as da tribo *Meliponini*, que possui muitos gêneros de abelhas-sem-ferrão (Tabela 1) (LOPES; FERREIRA; SANTOS, 2005).

Tabela 1 - Classificação das Abelhas Sem Ferrão

Classe	Insecta	
Ordem	Hymenoptera	
Superfamília	Apoidea	
Família	Apidae	
Tribo	Meliponini	

Fonte: (NOGUEIRA-NETO, 1997; LOPES; FERREIRA; SANTOS, 2005)

Os meliponíneos são chamados também de abelhas sem ferrão (SILVA; RAMOS, 2021). Recebem esta denominação porque neste grupo de abelhas o ferrão é muito reduzido (vestigial) e, portanto, não serve como estratégia de defesa (BUZZI, 2005). Podem ser chamadas ainda de "abelha indígena", visto que são tradicionalmente manejadas por povos indígenas (LOPES; FERREIRA; SANTOS, 2005).

As abelhas indígenas têm tamanho de médio a grande, variando entre 7 a 15 mm (OLIVEIRA et al., 2013). Suas colônias são geralmente muito populosas (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002), possuindo entre 100 e 100.000 indivíduos de acordo com a espécie (PEREIRA; SOUZA; LOPES, 2017).

Geralmente os meliponíneos constroem seus ninhos em cavidades encontradas nas árvores, mas existem espécies que nidificam em fendas de rochas, cavidades no chão, paredes, assoalhos e até mesmo em locais abertos como galhos de árvores (FREITAS, 2003).

Os ninhos dos meliponíneos geralmente são construídos de cera e cerume (cera com adição de própolis), sendo que algumas espécies usam geoprópolis para impermeabilizar o ninho (SILVA; PAZ, 2012).

As abelhas sem ferrão produzem a geoprópolis que se constitui numa mistura de barro e própolis, servindo como cimento pelas abelhas para tampar frestas ou delimitar cavidades (WITTER; NUNES-SILVA, 2014).

O geoprópolis apresenta grande potencial como alternativa para contribuir no sustento em pequenas propriedades rurais (PEREIRA *et al.*, 2012). Silva et al. (2020) avaliaram o conteúdo fenólico e as propriedades antioxidantes da geoprópolis de *Melipona mandacaia*. Seus resultados revelaram que a geoprópolis da mandaçaia possui atividade antioxidante e é rica em compostos bioativos fenólicos com potencial para trazer benefícios a saúde.

O ninho consiste, basicamente, das células de cria e potes para armazenamento de pólen e mel (FREITAS, 2003). Os potes onde são guardados os alimentos são circulares ou ovais, são feitos de cerume e variam de tamanho conforme a espécie (PEREIRA; SOUZA; LOPES, 2017). A grande maioria das espécies de abelhas possuem o néctar e o pólen como sua principal fonte de energia e proteína, respectivamente (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Nas colônias de abelhas-sem-ferrão é possível encontrar um material que pode ser constituídos de fezes, pedaços de abelhas e larvas mortas e são acumulados no depósito de detritos ou lixeira, que são esvaziados periodicamente pelas operárias (PEREIRA *et al.*, 2012). NOGUEIRA-NETO (1997) verificou que esse material trata-se de uma massa consistente e pesada, localizando-se na parte interior do ninho.

Foi verificado por NOGUEIRA-NETO (1997) a presença de depósitos de detritos em ninhos de *Trigona spinipes*. O mesmo autor afima ser encontrado depósitos de lixos em quase todos os ninhos de Meliponíneos.

As abelhas sem ferrão são insetos sociais distribuídos pelas regiões tropicais e subtropicais (PAULA *et al.*, 2021). Essas abelhas compõe um táxon grande e diversificado que compreende cerca de 60 gêneros, muitos dos quais poucos são conhecidos (RASMUSSEN; CAMERON, 2009), e possui aproximadamente 550 espécies (MELO, 2020). É verificado que nos trópicos americanos (Neotrópicos) existe uma maior diversidade destas abelhas (WITTER, NUNES-SILVA, 2014), chegando a ter 75% de ocorrência (MELO, 2020).

No Brasil, os meliponíneos são espécies nativas e compõem grande parte das espécies de abelhas do país (SILVA; RAMOS, 2021). Segundo Pedro (2014), a fauna brasileira de abelhas sem ferrão é composta, atualmente, por um total de 244

espécies descritas. No entanto, é nas regiões norte e nordeste que as abelhas nativas possuem maior destaque, não só por causa da criação racional de diferentes espécies (ALVES *et al.*, 2007), mas também devido ao clima e à disponibilidade de recursos florais (VILLAS-BÔAS; MALASPINA, 2005).

As abelhas são os principais agentes polinizadores, exercendo um serviço extremamente importante para o ecossistema (BARBOSA *et al.*, 2017). Dentre estes insetos, os meliponíneos são os principais polinizadores de plantas nativas do Brasil (SILVA; RAMOS, 2021).

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) este grupo de insetos é responsável por polinizar 30% das espécies da Caatinga e do Pantanal e até 90% das espécies da Mata Atlântica (PEREIRA; SOUZA; LOPES, 2017). Entretanto, apesar da sua extrema importância, as abelhas sem ferrão estão em processo acelerado de desaparecimento, estimulado principalmente pelo desmatamento de florestas nativas, ambiente de preferência dessas espécies (LOPES; FERREIRA; SANTOS, 2005).

Além de serem excelentes polinizadores, as abelhas nativas são responsáveis pela fabricação de produtos e subprodutos de grande importância comercial que inclui mel, própolis e geoprópolis (SILVA; PAZ, 2012). Estes produtos são os principais atrativos para o manejo e a criação racional destas espécies (SILVA; PAZ, 2012).

A criação racional de abelhas sem ferrão é chamada de meliponicultura (RIBEIRO et al., 2019). Essa atividade vem alcançando cada vez mais destaque, por ainda ser pouco praticada o volume de mel disponível é menor, fazendo com que o seu valor aumente no mercado (CAMARGO; OLIVEIRA; BERTO, 2017). Ademais, a meliponicultura traz benefícios econômicos e ambientais, visto que as abelhas nativas polinizam a flora local contribuindo não só para a produção de alimentos, mas também para a manutenção da biodiversidade local (PEREIRA; SOUZA; LOPES, 2010). Assim, o desaparecimento das abelhas nativas coloca em risco a flora e fauna silvestre (PEREIRA; SOUZA; LOPES, 2010).

No nordeste as espécies de abelhas que mais se destacam são: a Uruçu Nordestina (*Melipona scutellaris*), especialmente nos estados de Pernambuco, Paraíba e Ceará; a Jandaíra (*Melipona subnitida*) no Rio Grande do Norte; Mandaçaia (*Melipona mandacaia*) e *Melipona asilvai* na Bahia; e Tiúba (*Melipona compressipes*) no Piauí e Maranhão (VILLAS-BÔAS; MALASPINA, 2005).

A *Melipona mandacaia* é considerada uma das espécies mais resistentes de abelhas, pois habita num ambiente onde apenas os mais adaptados sobrevivem (ALVES et al., 2016).

2.3 Melipona mandacaia

No Brasil, as abelhas da tribo *Meliponini* possuem bastante visibilidade, em especial as do gênero *Melipona*, pois são facilmente domesticáveis (SILVA; ARAÚJO; SCHER, 2012).

Entre as espécies do gênero *Melipona*, destacam-se duas espécies de abelhas: a Melipona *quadrifasciata* e a *Melipona mandacaia*, ambas conhecidas popularmente como mandaçaia (SILVA; ARAÚJO; SCHER, 2012).

Conhecida também como mandaçaia-menor, a *M. mandacaia* é uma espécie endêmica do semiárido brasileiro. Ela tolera ambientes quentes, possui coloração preta com faixas abdominais amarelas e seu tamanho é considerado menor quando comparada a *M. quadrifasciata* (Figura 1) (BIANCO; CAZENAVE-TAPIE, 2016).



Figura 1 - Melipona mandacaia

Fonte: Prof. J.M.F. Camargo

Em relação às espécies de abelhas sem ferrão, a mandaçaia (Melipona mandacaia Smith, 1863) é uma das mais conhecidas no nordeste brasileiro, sendo um animal de convívio permanente das zonas rurais (ALVES; CARVALHO; SOUZA, 2006). Sua distribuição está restrita ao bioma da caatinga, ocorrendo pela extensão do Rio São Francisco, nos estados da Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco e Piauí (BATALHA-FILHO *et al.*, 2011).

As abelhas indígenas são importantes para a polinização de muitas plantas da Caatinga (SILVA *et al.*, 2020). Elas costumam visitar espécies nativas como jitirana e umbuzeiro (BIANCO; CAZENAVE-TAPIE, 2016).

Um estudo polínico realizado por Alves, Carvalho e Souza (2006), no munícipio de São Gabriel (BA), mostrou que a flora visitada pela *M. mandacaia*, incluem *Piptadenia rigida, Mimosa verrucata, Psidium sp. e Ricinus communis*. Braga *et al.* (2012) analisou amostras de pólen contidas em potes de alimentos em um meliponário na região de Petrolina (PE) e destacou as famílias Mimosaceae e Plantaginaceae como sendo as mais visitadas pela mandaçaia.

Ribeiro, Rodrigues e Fernandes (2012) fizeram um levantamento dos locais de nidificação de *M. mandacaia* na região do Vale Submédio São Francisco. Eles identificaram que das 1.130 árvores analisadas, a grande maioria (cerca de 73%) dos ninhos foram encontrados na umburana de cambão (*Commiphora leptophloeos*), seguida pelo umbuzeiro (*Spondias tuberosa*), porém em número bem menor (18%), as outras plantas menos usadas incluíam espécies como Algaroba (*Prosopis juliflora*) e Jatobá (*Hymenaea martiniana*).

A *Melipona mandacaia* possui função importante na manutenção da biodiversidade da caatinga, pois ela não só contribuem para a perpetuação das espécies vegetais as quais visita, mas também no aspecto social, econômico, nutricional e cultural (ALVES et al., 2016), além de ser uma das poucas espécies usadas para atribuir valor e renda pelos produtores rurais (ALVES; SOUZA; CARVALHO, 2007).

No entanto, a mandaçaia pertence a um ambiente onde a sobrevivência é afetada por condições ambientais adversas e ações antrópicas, estes aspectos estimula o desaparecimento de espécies vegetais utilizadas para colocar seus ninhos, contribuindo para diminuir significativamente a abundância de colônias desta espécie (ALVES; SOUZA; CARVALHO, 2007).

3 METODOLOGIA

3.1 Área de estudo

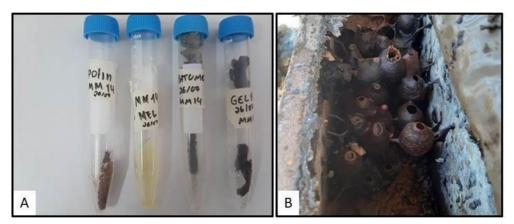
O estudo foi realizado na Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), vinculada a Universidade Federal Rural de Pernambuco. A UAST está localizada no município de Serra Talhada, mesorregião do Sertão de Pernambuco, na microrregião do Vale do Pajeú e está inserida na Fazenda Saco (FERREIRA; ARAÚJO, 2014).

3.2 Coleta de amostras

As amostras de mel, pólen, geoprópolis e Lixo de abelhas foram coletadas apenas da colmeia enumerada como 14 de Mandaçaia (*Melipona mandacaia*) pertencente ao meliponário localizado na Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Foram coletadas amostras de mel, pólen, geoprópolis e lixo de abelhas com auxílio de seringas e pinças estéreis, armazenando-as em tubos falcon estéreis (Figura 2). Em seguida os tubos foram etiquetados e acondicionados para processamento no Laboratório de Experimentação de Organismos Aquáticos (LEOA) na Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Figura 2 - Amostras coletadas de pólen, mel, lixo de abelhas e geoprópolis (A) e Colônia de *Melipona mandacaia* (B).



Fonte: autoria própria.

3.3 Isolamento e purificação de bactérias e leveduras

Para determinar a qualidade microbiológica das amostras, 1 mL de mel foram diluídos em 9mL de salina (diluição 10⁻¹). A partir desta diluição foram realizadas diluições seriadas de 10⁻² até 10⁻³ (Figura 3). As diluições, 100 μL, foram plaqueadas em triplicata em meio Agar Nutriente, sendo posteriormente incubadas a 35° C por 48 horas para determinar o número das unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias aeróbias mesófilas totais. As diluições também foram plaqueadas em Agar Sabouraud e incubadas a 30°C por 48 horas para a contagem das UFC de leveduras. O mesmo procedimento foi realizado para a amostra de pólen.

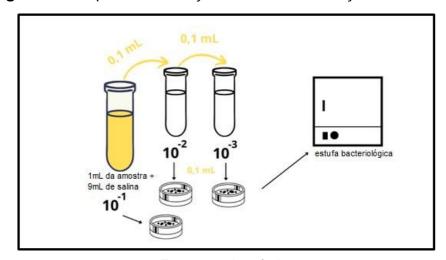


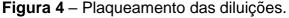
Figura 3 – Esquema da diluição seriada e inoculação da amostra.

Fonte: autoria própria.

Para o geopropolis e o lixo das abelhas, 1g de cada produto foi diluído em 9mL de salina (diluição 10⁻¹). A partir desta diluição foram realizadas diluições seriadas de 10⁻² até 10⁻⁴ para geopropolis e de 10⁻² até 10⁻⁵ para o lixo das abelhas, ambas as diluições também foram feitas em triplicata e incubadas a 35°C por 48 horas (Figura 4).

Após o crescimento dos microrganismos, as unidades formadoras de colônias (UFC) foram classificadas morfologicamente de acordo com a cor, brilho, forma, superfície, consistência, elevação e bordas da colônia. A caracterização macroscópica de todos os microrganismos está contida nos anexos.

As colônias foram analisadas e selecionaram-se os morfotipos mais frequentes nas placas para realizar o repique.



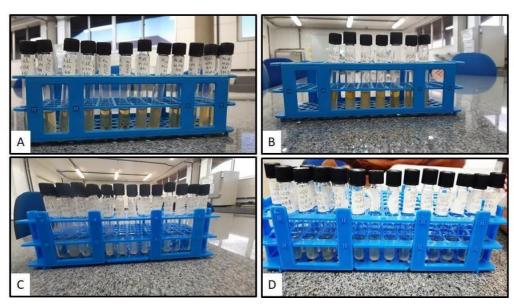


Fonte: autoria própria.

3.4 Prova vermelho de metila (VM)

A metodologia seguida foi à mesma de Silva (2013). As colônias de bactérias mesófilas totais foram novamente semeadas em agar nutriente e incubados a 35°C por 48 horas. Após dois dias de incubação, uma alçada das bactérias foi transferida para tubos de ensaio contendo 2,5mL de meio de cultura para Teste VM e colocados na estufa a 35°C por 24h (Figura 5). Depois do período de incubação, cinco gotas da solução vermelho de metila foram adicionadas ao meio e observada a variação de cor. Caso o meio apresentasse coloração vermelha a prova era considerada positiva.

Figura 5 - Isolados de Mel (A), Pólen (B), Geoprópolis (C) e Lixo de abelha (D) em meio de cultura para Teste VM.



Fonte: autoria própria

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Microrganismos isolados

A partir dos procedimentos elaborados, foram obtidos dois isolados de leveduras e 13 isolados de bactérias presentes na amostra de mel. Em relação ao pólen, foram obtidos sete isolados de bactérias e não houve crescimento de leveduras. Para o geoprópolis, foram selecionados 18 isolados de bactérias. Quanto ao lixo das abelhas, foram obtidos 20 isolados de bactérias. A relação da quantidade de microrganismos obtidos está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Amostras e seus respectivos códigos e números de microrganismos isolados obtidos de *M. mandacaia*.

Amostras	Códigos	Nº de Isolados
Mel (Leveduras)	IML	2
Mel (Bactérias)	IMB	13
Pólen (Leveduras)	IPL	0
Pólen (Bactérias)	IPB	7
Geopropolis (bactérias)	IGB	18
Lixo das abelhas (bactérias)	IBB	20
Total		60
		·

Fonte: autoria própria.

Apis mellifera é uma abelha muito utilizada na produção de mel e outros produtos apícolas, além de ser usada como agente polinizador de plantas cultivadas, mas surgiu uma preocupação generalizada a respeito da saúde e declínio das colônias. Esse fato despertou o interesse pelos micro-organismos associados ao intestino desses insetos (MCFREDERICK et al., 2012; TARPY et al., 2015). Embora o intestino das rainhas em *Apis mellifera* seja colonizado por microrganismos pela via materna, foi verificado que rainhas maduras possuem uma microbiota intestinal semelhante à microbiota das glândulas hipofaringeanas das operárias (TARPY et al., 2015).

De qualquer forma, apesar da transmissão vertical (maternal) da microbiota nas abelhas, Mcfrederick *et al.* (2012) verificaram que certas espécies de Lactobacillus associadas a *A. mellifera* e a abelhas do gênero *Bombus* estão

presentes nas flores visitadas por essas espécies. Portanto, a microbiota intestinal das abelhas pode ter uma relação direta com os microrganismos presentes no interior da colmeia, colonizando o alimento estocado, mel, pólen e a provisão das larvas, o batume e até mesmo a geoprópolis.

O mel, apesar de sua utilidade, é conhecido por conter certos microrganismos. Na verdade, é descrito como um reservatório microrganismos (OLAITAN; ADELEKE; OLA, 2007).

De acordo com Venturiere *et al.* (2007) a concentração de açúcares totais nos meis de *M. flavolineata* e *M. fasciculata* em média são de 64,10% e 73,89% respectivamente, enquanto a concentração média em *A. mellifera* é de 81,92. Apesar do mel de abelhas nativas apresentarem atividade antimicrobiana, fungos e leveduras já foram encontrados com contagem padrão acima da permitida pela legislação e, além disso, a presença de bactérias do grupo coliformes (SOUZA *et al.*, 2009).

Embora a concentração de açúcares no mel de abelhas nativa seja menor, ela é suficiente para provocar estresse osmótico nos microrganismos presentes nesse substrato. Portanto acreditamos que os microrganismos isolados a partir do mel são microrganismos osmofílicos, principalmente as leveduras.

Apesar de o mel ser um reservatório de microrganismos contaminantes (SOUZA et al., 2009), ele pode abrigar microrganismos, principalmente Bacillus sp, que produzem substâncias antagônicas a microrganismos que deterioram o alimento estocado na colmeia (GILLIAM; ROUBIK; LORENZ, 1990), garantindo a sua qualidade. Em se tratando de abelhas nativas, a contaminação do mel está mais relacionada à manipulação do que a contaminação pelas próprias abelhas.

A saúde da colmeia também depende da sua microbiota intestinal, principalmente devido à presença de espécies de bactérias da família Lactobacillaceae, sendo as abelhas hospedeiros específicos desse grupo, o qual é dominante na microbiota intestinal das abelhas (McFREDERICK et al., 2013).

Melo (2015) comparou a contagem de microrganismos em amostras de pólen *A. Mellifera* liofilizadas a amostras desidratadas em estufa e verificou que o pólen seco em estufa continha uma densidade maior de células microbianas, com contagem de 17 \pm 8 ufc/g de bactérias mesófilas totais e 99 \pm 31 ufc de fungos filamentosos e leveduras, contra \leq 10 ufc de mesófilas totais e 16 \pm 5 de fungos filamentosos e leveduras no pólen liofilizado.

Gilliam, Roubik e Lorenz (1990) encontraram em estado natural algumas espécies de *Bacillus* no pólen de *M. fasciata* produtoras de substâncias antagônicas a micro-organismos contaminantes. O pólen dos Meliponíneos normalmente tem uma umidade relativamente alta, o que pode facilitar a colonização por micro-organismos. As abelhas naturalmente não são capazes de digerir o grão de pólen e necessitam de uma microbiota intestinal específica para fazer a pré-digestão desse alimento, como ocorre em *Apis mellifera*.

Bactérias presentes no polén de *Scaptotrigona depilis*, principalmente *Bacillus sp*, secretam enzimas que realizam a fermentação acética e láctica. Os ácidos produzidos ajudam na pré-digestão da parede externa do grão de pólen (a exina). Os produtos das fermentações ácidas, além da pré-digestão, ajudam na preservação do pólen estocado, evitando a proliferação de micro-organismos contaminantes (MENEZES, 2015).

Os resultados das contagens de bactérias, fungos filamentosos e leveduras de amostras de mel, pólen, geoprópolis e do batume de *M. mandacaia* está expresso na Tabela 3.

Tabela 3 - Contagem em de Unidades de Formadoras de Colônias (UFC) em placa de Petri de diferentes grupos de micro-organismos por grama de diferentes substratos em colmeias de *M. mandacaia*.

Substrato	Bactérias	Leveduras	Fungos filamentosos
Mel	2,00 x 10 ⁵	1,04 x 10 ⁵	NC
Pólen	$2,10 \times 10^5$	NC	NC
Geoprópolis	7,40 x 10 ⁴	NC	NC
Lixo depositado	8,40 x 10 ⁶	NC	NC

NC = Não-crescimento

Não foram encontrados na literatura artigos científicos sobre o depósito de lixo das colmeias de abelhas nativas, no entanto (NOGUEIRA-NETO, 2014) relata que na colmeia as abelhas reservam um local específico para depositar os resíduos que geralmente são constituídos de por grãos de pólen não digeridos, fezes, restos

de abelhas mortas e de outros animais que normalmente vivem na colmeia. Neste trabalho foi observado que esse "lixo" se apresentava como uma massa seca, irregular, quebradiça, composta basicamente por argila. Foi observado também em *M. scutelata* (abelha uruçu) na zona da mata do Estado de Pernambuco, que o "lixo", diferentemente de *M. mandacaia*, é úmido. De qualquer forma, o "lixo" de *M. mandacaia* apresentou uma considerável carga microbiana presente nesse substrato (Tabela 3) quatro vezes maior do que a encontrada no mel e no pólen e dez vezes mais do que a do geoprópolis. A carga microbiana associada ao lixo de abelha, um substrato bastante consistente e seco, obtida neste estudo pode ser indicativo de bactérias produtoras de esporos.

A geoprópolis é uma mistura de resinas vegetais e terra ou barro que é rica em compostos fenólicos e flavonoides e possui atividade antioxidante (CARDOZO et al, 2015). Esse produto tem sido comercializado, através da internet e em redes socias, como um produto que tem propriedades terapêuticas, em forma bruta ou como extrato (https://www.ipamel.com.br/geopropolis_de_mandacaia); (https://pt-br.facebook.com/sitio.cultivar/photos/a).

Azevedo (2015) verificou que o extrato de geoprópolis de *Plebeia aff. flavocincta* inibiu o crescimento *in vitro* das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus feacalis*, no entanto, no presente trabalho, a contagem de bactérias mesófilas na geoprópolis de *M. mandacaia* foi relativamente alta (Tabela 3). A composição química qualitativa e quantitativa da geoprópolis de Meliponíneos varia de acordo com a espécie de abelha e de plantas visitadas por esses insetos (CARDOZO et al., 2015).

Portanto, a geoprópolis deve passar por uma análise da qualidade química e microbiológica antes de ser ofertada ao mercado consumidor, uma vez que a composição e a concentração de substâncias antimicrobianas podem não ser suficientes para evitar a contaminação do produto por bactérias patogênicas, mesmo que o produto seja comercializado na forma de extrato alcóolico.

4.2 Caracterização morfológica

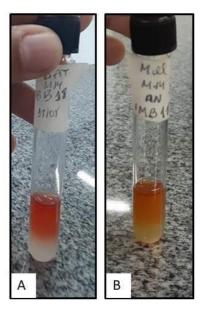
As colônias microbianas mostraram variações quanto à coloração, as que tiveram maior frequência foram creme, amarelo, rosa e branco. No geral, as colônias apresentaram-se circulares, bordas inteiras, brilhosas, planas e com consistência

butirosa (ANEXOS). A partir da caracterização macroscópica, sugere que os microrganismos apresentam propriedades morfológicas diferentes.

4.3 A produção de ácidos orgânicos

O teste vermelho de metila foi aplicado aos 58 isolados, ou seja, apenas para as bactérias. Dois isolados apresentaram a viragem do indicador de pH para a cor vermelha. Os isolados que evidenciaram a produção de ácidos orgânicos a partir da glicose foram os isolados IMB11 que pertence à amostra de mel e o isolado IBB18 pertencente à amostra de lixo de abelhas (Figura 6).

Figura 6 – Amostras de Lixo de abelhas (A) Mel (B) positivas para teste VM.

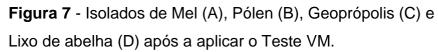


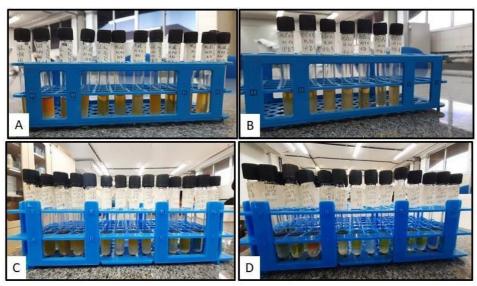
Fonte: autoria própria.

O teste do vermelho de metila (VM) ou teste VM consiste em avaliar o crescimento de bactérias que fermentam a glicose e a partir disso produzem ácidos orgânicos. Assim, a redução do pH a menos de 4,4 (limite de viragem do indicador de pH) mostra a produção deste tipo de substância que pode incluir ácido fórmico, lático, acético e outros. A Figura 7 apresenta os resultados da coloração dos isolados após o Teste VM.

Os ácidos orgânicos são ácidos de cadeia curta que agem sobre bactérias patogênicas ao modificar a concentração de íons H+ no interior da célula bacteriana.

O patógeno ao tentar normalizar o pH, gasta excessiva quantidade de energia, ocasionando a morte celular (FACCHI, 2019).





Esses resultados são diferentes daqueles encontrados por FIGUEROA *et al.* (2019) que analisaram amostras de mel, pólen e intestino de três espécies de abelhas: *Melipona scutellaris, Melipona subnitida e Melipona mandacaia*. Eles isolaram bactérias acéticas do pólen das três espécies e Lactobacillus do intestino de abelhas adultas de *M. mandacaia*.

É provável que a diferença entre os resultados obtidos seja devido ao meio utilizado para isolar tais microrganismos, pois neste trabalho foi usado meio agar nutriente para bactérias mesófilas totais enquanto que no estudo realizado por FIGUEROA *et al.* (2019) o meio foi específico para bactérias acéticas.

Em um trabalho realizado por Santos et al. (2021) em que teve o objetivo de determinar a composição de ácidos orgânicos alifáticos (AOA) de Apis melífera e Melípona quadrifasciata, foi identificado que os ácidos maleico, fumárico, succínico, glutárico e propiônico foram identificados somente nas amostras de mel de ASF, mas em pequena quantidade. Os ácidos glucônico e lático foram predominantes em todas as amostras. Entretanto, o ácido acético também apresentou concentrações elevadas nas amostras de mel de ASF.

As colônias de abelhas indígenas são recipientes naturais de microrganismos que podem estar contidos no pólen, no mel, no alimento das larvas, trato intestinal das abelhas e estruturas dos ninhos (FIGUEROA *et al.*, 2019).

De acordo com MCFREDERICK *et al.* (2012) os microrganismos que estão na fauna intestinal das abelhas incluem bactérias acidófilas. Segundo Paula (2021) as bactérias produtoras de ácidos, como as bactérias ácido láticas, têm exibido potencial antimicrobiano e terapêutico.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O isolado de mel (IMB11) e o isolado de lixo de abelhas (IBB18) atestaram positivos para a produção de ácidos orgânicos a partir da glicose. Portanto, é importante a realização de estudos que identifiquem o potencial biotecnológico destes isolados.

Os microrganismos que foram isolados do mel neste trabalho podem ser microrganismos osmofílicos, especialmente as leveduras.

A geoprópolis apresentou uma quantidade relativamente elevada de microrganismos. Dessa forma, é importante que este produto passe por testes que determinem a sua qualidade química e microbiológica para que assim possa ser ofertada ao consumidor.

O lixo de abelha, apesar de ser um substrato denso e seco, também mostrou quantidade relativamente alta de microrganismos. Assim, sugere-se a presença de bactérias formadora de esporos.

As informações a respeito da identificação, caracterização química e biológica de microrganismos associados à *Melipona mandacaia* apresentaram-se escassos e assim também são os estudos a respeito de seus produtos e substratos, como o lixo de abelha.

Nesse sentido, é importante a realização de estudos detalhados que possibilitem obter um maior conhecimento sobre a dinâmica simbiótica entre a *Melipona mandacaia* e os microrganismos que estão associados a ela, pois é uma espécie de extrema importância para a Caatinga.

6 REFERÊNCIAS

- ALVES, R. M. de O.; SOUZA, B. de A.; CARVALHO, C. A. L. de. Notas sobre a bionomia de Melipona mandacaia (APIDAE: MELIPONINA). **Magistra.** v. 19, n. 3, p. 204-212, 2007.
- ALVES, R. M. O. de *et al.* **Melipona Mandacaia Smith, 1863**: Abelha da Caatinga do Velho Chico. [S.L.]: Editora Crv, 2016. 248 p.
- ALVES, R. M. O. de *et al.* Desumidificação: uma alternativa para a conservação do mel de abelhas sem ferrão. **Mensagem Doce**, n. 91, p. 2-8, 2007.
- AZEVEDO, D. L. Análise das propriedades antimicrobianas do mel e da geoprópolis da abelha plebeia aff. flavocincta frente aos micro-organismos Staphylococcus aureus e Enterococcus faecalis. Dissertação. Pós-gradução em Sistemas Agroindustriais (Centro de Ciências e tecnologias Universidade Federal de Campina Grande). 2019. 29p.
- BARBOSA, D. B. *et al.* As abelhas e seu serviço ecossistêmico de polinização. **Revista Eletrônica Científica da Uergs**, [S.L.], v. 3, n. 4, p. 694-703, 30 dez. 2017. Revista Eletrônica Científica da UERGS. http://dx.doi.org/10.21674/2448-0479.34.694-703.
- BATALHA-FILHO, H.; WALDSCHMIDT, A. M.; ALVES, R. M. de O. Distribuição potencial da abelha sem ferrão endêmica da caatinga, (Hymenoptera, Apidae) *Melipona mandacaia*. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 23, n. 3, p. 129-133, 2011.
- BIANCO, V.; CAZENAVE-TAPIE, R. Boas práticas para o bem-estar das abelhas nativas sem ferrão: a fortaleza slow food do mel de abelha mandaçaia da caatinga em foco. **Slow food foundation**, 2016.
- BRAGA, J. R. *et al.* Tipos polínicos coletados por Melipona mandacaia (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) em Petrolina, PE. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 7.; JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FACEPE/UNIVASF, 1., 2012, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semiárido, 2012. p. 35-41. 1 CD-ROM.
- BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de Lactobacillus paracasei e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 76-77, 2008.
- BUZZI, Z. J. Entomologia Didática. 4. ed. [S.I.]: Ufpr, 2005. 579 p.
- CAMARGO, J.M.F. **Melipona (Melipona) mandacaia Smith, 1863**. (RPSP), FFCLRP/USP. 2022. Disponível em: http://abelha.cria.org.br/search?Name=Melipona%20mandacaia. Acesso em: 20 set. 2022.

- CAMARGO, R. C. R. de *et al.* Mel de abelhas sem ferrão: proposta de regulamentação. **Brazilian Journal Of Food Technology**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 2-6, nov. 2017. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.15716.
- CONTI, R.; GUIMARÃES, D. O.; PUPO, M. T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiontes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**, [S.L.], v. 64, n. 3, p. 43-47, 2012. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.21800/s0009-67252012000300014.
- ENGEL, P.; MARTINSON, V. G.; MORAN, N. A. Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 109, n. 27, p. 11002-11007, 18 jun. 2012. Proceedings of the National Academy of Sciences. http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1202970109.
- EVANS, J. D. et al. Immune pathways and defence mechanisms in honey bees Apis mellifera. **Insect Molecular Biology**, [S.L.], v. 15, n. 5, p. 645-656, out. 2006. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00682.x.
- FELDHAAR, H. Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. **Ecological Entomology**, [S.L.], v. 36, n. 5, p. 533-543, 13 set. 2011. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2311.2011.01318.x.
- FACCHI, C. A utilização de Ácidos Orgânicos no controle de microrganismos e controle sanitário das aves. **Avicultura industrial**, [S.I.], 111, 10, p. (34-36), novembro, 2019.
- FELDHAAR, H; GROSS, R. Insects as hosts for mutualistic bacteria. **International Journal Of Medical Microbiology**, [S.L.], v. 299, n. 1, p. 1-8, jan. 2009. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.05.010.
- FERREIRA, C. W. S; ARAÚJO, M. do S. B. de. Influência do Uso do Solo e da Drenagem no Transporte de Sedimentos para um Reservatório de Água no Semiárido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Geografia Física**, [S.I], v. 7, n. 6, p. 1229-1243, out. 2014.
- FIGUEROA, M. V. et al. Procurando microorganismos em Meliponini: prospectando o mel e o pólen estocados. In: XXIX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRPE, 2019, Serra Talhada. **XXIX Congresso de Iniciação Científica da UFRPE**, 2019.
- FREITAS, B. M. MELIPONÍNEOS A Vida das Abelhas. fortaleza Ufc- centro de ciências agrárias, departamento de zootecnia. CD-ROM v. 4, n. 1, 2004.

GILLIAM, M.; ROUBIK, D. W.; LORENZ, B. J.. Microorganisms associated with pollen, honey, and brood provisions in the nest of a stingless bee, Melipona fasciata. **Apidologie**, [S.L.], v. 21, n. 2, p. 89-97, 1990. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1051/apido:19900201

LEONHARDT, S. D.; KALTENPOTH, M. Microbial Communities of Three Sympatric Australian Stingless Bee Species. **Plos One**, [S.L.], v. 9, n. 8, p. 1-6, 22 ago. 2014. Public Library of Science (PLoS). http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0105718.

LIEVEN, Mateus *et al.* AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO MEL COMERCIALIZADO NO EXTREMO SUL DA BAHIA. **Revista Baiana de Saúde Pública**, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 544, 1 set. 2012. Secretaria da Saúde do Estado da Bahia. http://dx.doi.org/10.22278/2318-2660.2009.v33.n4.a287.

LOPES, M.; FERREIRA, J. B.; SANTOS, G. dos. Abelhas sem-ferrão: a biodiversidade invisível. **Agriculturas**, [S.I], v. 2, n. 4, p. 8-9, dez. 2005.

MATHIALAGAN, M. *et al.* Isolation, Characterization and Identification of Probiotic Lactic Acid Bacteria (LAB) from Honey Bees. **International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences**, [S.L.], v. 7, n. 04, p. 894-906, 10 abr. 2018. Excellent Publishers. http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2018.704.096.

MCFREDERICK, Q. S. *et al.* Environment or kin: whence do bees obtain acidophilic bacteria?. **Molecular Ecology**, [S.L.], v. 21, n. 7, p. 1754-1768, 16 fev. 2012. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294x.2012.05496.x.

MELO, A. A. M. Perfil químico e microbiológico, cor, análise polínica e propriedades biológicas do pólen apícola desidratado. Tese. Programa de Pós Graduação em Ciências dos Alimentos (Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP). 2015. 341p.

MELO, G. A. R.. Stingless Bees (Meliponini). **Encyclopedia Of Social Insects**, [S.L.], p. 1-18, 2020. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-90306-4_117-1.

MENEGATTI, C. *et al.* Meliponamycins: antimicrobials from stingless bee-associated streptomyces sp.. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 83, n. 3, p. 610-616, 19 fev. 2020. American Chemical Society (ACS). http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01011.

MENEZES, C. **Abelhas sem ferrão e microrganismos**. 2015. Disponível em: https://abelha.org.br/abelhas-sem-ferrao-e-microrganismos-parte-1/. Acesso em: 20 jul. 2022.

MORAIS, P. B.; CALAÇA, P. S. S. T.; ROSA, C. A. Microorganisms Associated with Stingless Bees. **Pot-Honey**, [S.L.], p. 173-186, 19 nov. 2012. Springer New York. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-4960-7_11.

MORAN, N. A. Symbiosis. **Current Biology**, [S.L.], v. 16, n. 20, p. 866-871, out. 2006. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2006.09.019.

NGALIMAT, M. S. *et al.* A Review on the Association of Bacteria with Stingless Bees. **Sains Malaysiana**, [S.L.], v. 49, n. 8, p. 1853-1863, 31 ago. 2020. Penerbit Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM Press). http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2020-4908-08.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão. São Paulo: Urna Edição Nogueirapis, 1997. 445 p.

OLAITAN, P. B.; ADELEKE, O. e; OLA, I. O. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. **African Health Sciences**, [S.I], v. 7, n. 3, p. 159-165, 07 set. 2007.

OLIVEIRA, F. F. de *et al.* Guia ilustrado das abelhas "Sem Ferrão" das reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) . Tefé: Idsm, 2013. 267 p.

PAULA, G. T. de *et al.* Stingless bees and microbial interactions. **Current Opinion In Insect Science**, [S.L.], v. 44, p. 41-47, abr. 2021. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2020.11.006.

PEDRO, S. R. M. The Stingless Bee Fauna In Brazil (Hymenoptera: apidae). **Sociobiology**, [S.L.], v. 61, n. 4, p. 348-354, 29 dez. 2014. Universidade Estadual de Feira de Santana. http://dx.doi.org/10.13102/sociobiology.v61i4.348-354.

PEREIRA, F. M de; SOUZA, B. A. de; LOPES, M. T. R. do. **Criação de abelhas-sem-ferrão**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2017. 31 p.

PEREIRA, F. M. de *et al.* **Manejo de colônias de abelhas-sem-ferrão.** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2012. 31p.

PEREIRA, F. M. de; SOUZA, B. A. de; LOPES, M. T. R. do. **Instalação e manejo de meliponário**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2010. 24 p.

RASMUSSEN, C.; CAMERON, S. A. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. **Biological Journal Of The Linnean Society**, [S.L.], v. 99, n. 1, p. 206-232, 18 dez. 2009. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01341.x.

RIBEIRO, M. F. de; RODRIGUES, F.; FERNANDES, N. S. A mandaçaia (Melipona mandacaia) e seus hábitos de nidificação na região do polo Petrolina (PE) - Juazeiro (BA). **Mensagem Doce**, n. 115, p. 6-10, 2012.

RIBEIRO, M.F. *et al.* **Apicultura e Meliponicultura**. p. In: MELO, R. F. de; VOLTOLINI, T. V. (Ed.). Agricultura familiar dependente de chuva no Semiárido. Brasília, DF, Embrapa, 2019.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, D. et al. **Bacterioma associated with stingless bee Melipona scutellaris: antiprotozoal activities and chemical profiling**. 2017, Anais. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química - SBQ, 2017.

SANTOS, A. C. dos *et al.* ÁCIDO ACÉTICO COMO POTENCIAL MARCADOR DE AUTENTICIDADE DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO. In: 1° CONGRESSO VIRTUAL SUL BRASILEIRO DE APICULTURA E MELIPONICULTURA E O 1° SIMPÓSIO DE PRODUTOS DA COLMEIA, 1., 2021, [S.I.]. **ÁCIDO ACÉTICO COMO POTENCIAL MARCADOR DE AUTENTICIDADE DE MEL DE ABELHAS SEM FERRÃO.** [S.I.]: [S.I.], 2021. p. 1-2.

SILVA, G. V.; RAMOS, T. O de. Estudo estatístico sobre a concepção ecológica das pessoas acerca da importância das abelhas. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, [S.I], v. 24, n. 3, p. 22-30, abr. 2021.

SILVA, K. D. N. da. **BACTÉRIAS ESPOROGÊNICAS NO MEL DE Melipona asilvai** (Apidae: Meliponini) DA CAATINGA. 2013. 49 f. Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2013.

SILVA, P. R. da *et al.* Palynological Origin, Phenolic Content And Antioxidant Properties Of Geopropolis Collected By Mandaçaia (*Melipona Mandacaia*) Stingless. **Revista Caatinga**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 246-252, mar. 2020. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252020v33n126rc.

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. L. da. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza Online**, [S.I], v. 10, n. 3, p. 146-152, set. 2012.

SILVA, W. R. T.; ARAÚJO, E. D.; SCHER, R. Caracterização do cariótipo de uma população de abelhas Melipona quadrifasciata (Hymenoptera: Meliponini), no município de Brejo Grande/Se. **Scientia Plena**, [S.I.], v. 8, n. 3, p. 2-6, maio 2012.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. Abelhas brasileiras: **Sistemática e Identificação**. Belo Horizonte. Autores, 2002. 253 p.

SOUZA, B. A. de; ALVES, R. M. de O.; CARVALHO, C. A. L. de. Espectro polínico de amostras de mel de Melipona mandacaia Smith, 1863 (Hymenoptera: apidae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 66-70, 6 mar. 2006. Universidade Estadual de Maringa. http://dx.doi.org/10.4025/actascibiolsci.v28i1.1061.

SOUZA, B. A.; MARCHINI, L. C.; DIAS, C.T.S.; ODA-SOUZA, M.; CARVALHO, C.A.L.; ALVES, R. M. O. Avaliação microbiológica de amostras de mel de trigoníneos (Apidae: Trigonini) do Estado da Bahia. **Cienc. Tecnol. Aliment.** 29(4): 798-802. 2009.

TARPY, D. R.; MATILLA, H.R.; NEWTON, I. L. G. Development of the Honey Bee Gut Microbiome throughout the Queen-Rearing Process. **Appl. Environ. Microbiol.** 81(9). 3182-91. 2015

TOLA, Y. H. *et al.* Loss and Gain of Gut Bacterial Phylotype Symbionts in Afrotropical Stingless Bee Species (Apidae: meliponinae). **Microorganisms**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 2420, 24 nov. 2021. MDPI AG.

VÁSQUEZ, A.; OLOFSSON, T. C. The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. **Journal Of Apicultural Research**, [S.L.], v. 48, n. 3, p. 189-195, jan. 2009. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.3896/ibra.1.48.3.07.

VENTURIERI, G. C. et al. Caracterização, colheita, conservação e embalagem de méis de abelhas indígenas sem ferrão. 1 ed. Belém: Embrapa, 2007.

VILLAS-BÖAS, J. K.; MALASPINA, O. Parâmetros físico-químicos propostos para controle de qualidade do mel de abelhas indígenas sem ferrão no Brasil. **Mensagem Doce**, n. 82, p. 6-16, 2005.

WITTER, S.; NUNES-SILVA, P. Manual de boas práticas para o manejo e conservação de abelhas nativas (meliponíneos). Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 2014.

ANEXOS – Tabelas com a caracterização macroscópica das amostras coletadas de Melipona mandacaia.

MEL (AS)		
IML	-1	
Cor	Rosa	
Borda	Brilhosa	
Forma	Circular	
Margem	Inteira	
Superfície	Lisa	
Consistência	Cremosa	
Elevação	Plana	
IML 2		
Cor	Creme	
Brilho	Opaca	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Rugosa	
Consistência	Cremosa	
Elevação	Plana	

Mel (Mel (NA)		
IME	3 1		
Cor	Branca		
Brilho	Opaca		
Forma	Irregular		
Borda	Ondulada		
Superfície	Lisa		
Consistência	Cremosa		
Elevação	Plana		
IME	3 2		
Cor	Amarelada		
Brilho	Opaca		
Forma	Irregular		
Borda	Ondulada		
Superfície	Rugosa		
Consistência	Membranosa		
Elevação	Papilada		
IME	•		

Cor		Branca
Brilho		Opaca
Forma		•
		Irregular
Borda		Lobulada
Superfície		Rugosa
Consistência		Esfarelada
Elevação		Vulcão
o.taşao		valoue
	IMB 4	
	IIVID 4	
Cor		Creme
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
•		
Consistência		Cremosa
Elevação		Plana
	IMB 5	
Cor		Amarelada
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Cremosa
Elevação		Convexa
3	IMB 6	
Cor	2	Amarelada
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Cremosa
Elevação		Convexa
Liovação	IMB 7	σοπνολα
Con		Door
Cor		Rosa
Brilho		Opaca
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
		Convexa
Elevação	INAD O	CUIIVEXA
	IMB 8	
Cor		Creme
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
		Lisa
Superfície		
Consistência		Cremosa
Elevação		Plana
	IMB 9	
Cor		Branca

Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
Elevação		Plana
•	IMB 10	
Cor		Amarela
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
Elevação		Convexa
=.0.0.30.0	IMB 11	3 3 111 3 143
Cor		Amarela
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
Elevação		Convexa
Liovagao	IMB 12	Convoxa
Cor	11112	Verde
Brilho		Brilhante fosca
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Cremosa
Elevação		Convexa
Lievação	IMB 13	Convexa
Cor	INID 13	Creme
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		
		Cremosa
Elevação		Plana

Pólen (AN) IPB1		
Brilho	Brilhosa	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Lisa	
Consistência	Cremosa	

Elevação		Plana
_	IPB2	
Cor		Branca com fundo bege
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Creme
Elevação		Lisa
3	IPB3	
Cor		Transparente
Brilho		Brilhosa fosca
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
Elevação		Convexa
	IPB4	
Cor	IFD4	Amarelada
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Cremosa
Elevação		Plana
_	IPB5	
Cor		Branca
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Cremosa
Elevação		Plana
3		
	IPB6	
Cor		Amarelada
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
Elevação		Plana
Lievação	IPB7	i iaiia
Cor	51	Creme
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa

Elevação	Plana

Lixo	de Abelhas (AN)	
	IBB 1	
Cor	Laranja	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Butirosa	
Consistência	Lisa	
Elevação	Plana IBB 2	
Cor	Rosa	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Circular	
Borda	Ondulada	
Superfície	Cremosa	
Consistência	Lisa	
Elevação	Plana	
Licvação	IBB 3	
Cor	Creme	
Brilho	Brilhosa fosca	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Lisa	
Consistência	Butirosa	
Elevação	Plana	
	IBB 4	
Cor	Branco	
Brilho	Brilhosa fosca	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Lisa	
Consistência	Butirosa	
Elevação	Plana	
	IBB 5	
Cor	Branca	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Irregular	
Borda	Ondulada	
Superfície	Lisa	
Consistência	Cremosa	
Elevação	Plana	
-	IBB 6	
Cor	Branca	

Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
Elevação		Plana
,	IBB 7	
Cor		Verde
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Ondulada
		Lisa
Superfície Consistência		
		Cremosa Plana
Elevação	IDD 0	Plana
0	IBB 8	0
Cor		Creme
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Ondulada
Superfície		Lisa
Consistência		Cremosa
Elevação		Plana
	IBB 9	
Cor		Creme
Brilho		Opaca
Forma		Irregular
Borda		Lobada
Superfície		Lisa
Consistência		Viscosa ou friável
Elevação		Plana
	IBB 10	
Cor		Amarelo
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
Elevação		Convexa
3	IBB 11	
Cor		Transparente
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
Borda		Inteira
Superfície		Lisa
Consistência		Butirosa
Elevação		Convexa
2.0 4 4 9 4 0	IBB 12	Convola
Cor	.55 .2	Creme
Brilho		Brilhosa
Forma		Circular
i Uiiia		OilGulai

Borda	Inteira
Superfície	Lisa
Consistência	Butirosa
Elevação	Plana
3	IBB 13
Cor	Branca
Brilho	Opaca
Forma	•
Borda	Irregular
	Lobada
Superfície	Lisa
Consistência	Mucosa
Elevação	Plana
_	IBB 14
Cor	Rosa
Brilho	Brilhosa
Forma	Circular
Borda	Ondulada
Superfície	Lisa
Consistência	Cremosa
Elevação	Plana
o.taqae	IBB 15
Cor	Rosa
Brilho	Brilhosa
Forma	Circular
Borda	Ondulada
Superfície	Lisa
Consistência	Butirosa
Elevação	Plana
_	IBB 16
Cor	Creme
Brilho	Brilhosa
Forma	Circular
Borda	Ondulada
Superfície	Lisa
Consistência	Friável
Elevação	Plano
•	IBB 17
Cor	Amarelo claro
Brilho	Brilhosa
Forma	Circular
Borda	Inteira
Superfície	Lisa
Consistência	Cremosa
Elevação	Convexa
0.00	IBB 18
Cor	Branca
Brilho	Brilhosa fosca
Forma	Irregular
Borda	Ondulada
Superfície	Lisa

Butirosa
Plana
19
Creme
Brilhosa
Circular
Inteira
Lisa
Cremosa
Plana
20
Branca
Brilhosa
Circular
Inteira
Lisa
Cremosa
Convexa
2037.3.

Geoprópolis (AN)		
IG	GB 1	
Cor	Branca	
Brilho	Opaca	
Forma	Irregular	
Borda	Lobulada	
Superfície	Lisa	
Consistência	Mucosa	
Elevação	Plana	
IC	GB 2	
Cor	Rosada	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Rugosa	
Consistência	Cremosa	
Elevação	Plana	
IC	GB 3	
Cor	Creme	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Irregular	
Borda	Ondulada	
Superfície	Lisa	
Consistência	Cremosa	
Elevação	Plana	
IC	6B 4	
Cor	Creme	
Brilho	Brilhosa	

Forma	Irregular	
Borda	Ondulada	
Superfície	Lisa	
•		
Consistência	Cremosa	
Elevação	Plana	
	IGB5	
Cor	Creme	
Brilho		
	Brilhosa	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Lisa	
Consistência	Butirosa	
Elevação	Plana	
	IGB 6	
Cor	Amarela	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Lisa	
Consistência	Butirosa	
Elevação	Plana	
=.o.vaşao	IGB 7	
0.5		
Cor	Rosa	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Lisa	
Consistência		
	Butirosa	
Elevação	Plana	
	IGB 8	
Cor	Creme	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Irregular	
Borda		
	Ondulada	
Superfície	Lisa	
Consistência	Cremosa	
Elevação	Plana	
•	IGB 9	
Cor	Branca	
Brilho	Opaca	
Forma	Circular	
Borda	Inteira	
Superfície	Lisa	
Consistência	Butirosa	
Elevação	Plana	
Lievação		
	IGB 10	
Cor	Rosada	
Brilho	Brilhosa	
Forma	Circular	

Borda	Ondulada
Superfície	Lisa
Consistência	Cremosa
Elevação	Plana
Lievação	IGB 11
Cor	_
	Laranja
Brilho	Brilhosa
Forma	Circular
Borda	Inteira
Superfície	Rugosa
Consistência	Butirosa
Elevação	Plana
3	IGB 12
Cor	Verde
Brilho	Opaca
	·
Forma	Circular
Borda	Inteira
Superfície	Lisa
Consistência	Butirosa
Elevação	Convexa
	IGB 13
Cor	Branca
Brilho	Brilhosa fosca
Forma	Irregular
Borda	Ondulada
Superfície	Rugosa
Consistência	Mucosa
Elevação	Protuberante
_	IGB 14
Cor	Branca
Brilho	Opaca
Forma	Irregular
Borda	Ondulada
Superfície	Rugosa
Consistência	Butirosa
Elevação	Plana
Liovação	IGB 15
Cor	Amarela
Brilho	Brilhosa
Forma	Circular
Borda	Inteira
Superfície	Lisa
Consistência	Cremosa
Elevação	Plana
•	IGB 16
Cor	Branca
Brilho	Brilhosa
Forma	Circular
Borda	Inteira
Superfície	Lisa

Butirosa
Plana
17
Creme
Brilhosa
Circular
Inteira
Lisa
Mucosa
Plana
18
Amarronzada
Brilhosa
Circular
Inteira
Lisa
Cremosa
Plana
i lana