

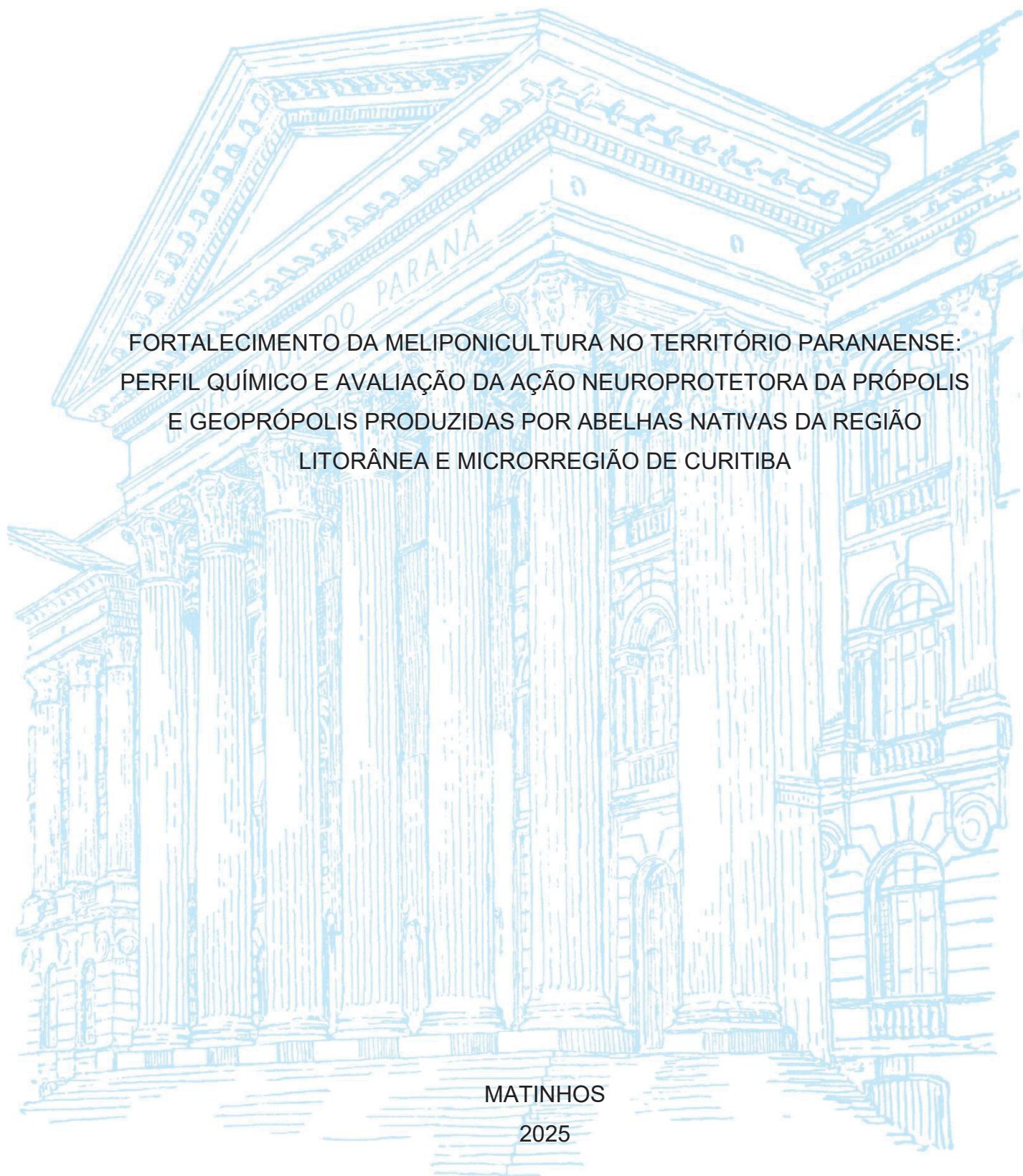
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DAYANE CRYSTINA DA SILVA CENEVIVA

FORTALECIMENTO DA MELIPONICULTURA NO TERRITÓRIO PARANAENSE:
PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA AÇÃO NEUROPROTETORA DA PRÓPOLIS
E GEOPRÓPOLIS PRODUZIDAS POR ABELHAS NATIVAS DA REGIÃO
LITORÂNEA E MICRORREGIÃO DE CURITIBA

MATINHOS

2025



DAYANE CRYSTINA DA SILVA CENEVIVA

FORTALECIMENTO DA MELIPONICULTURA NO TERRITÓRIO PARANAENSE:
PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA AÇÃO NEUROPROTETORA DA PRÓPOLIS
E GEOPRÓPOLIS PRODUZIDAS POR ABELHAS NATIVAS DA REGIÃO
LITORÂNEA E MICRORREGIÃO DE CURITIBA.

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Desenvolvimento Territorial Sustentável, Setor Litoral, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento Territorial Sustentável.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Everson da Silva

MATINHOS

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte
Biblioteca Universidade Federal do Paraná – Setor Litoral

C395f Ceneviva, Dayane Crystina da Silva
Fortalecimento da meliponicultura no território paranaense: perfil químico e avaliação da ação neuroprotetora da própolis e geoprópolis produzidas por abelhas nativas da região litorânea e microrregião de Curitiba / Dayane Crystina da Silva Ceneviva ; orientador Luiz Everson da Silva. – Matinhos, 2025.
1 recurso online : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná - Setor Litoral, Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Territorial Sustentável.

1. Meliponicultura (Paraná). 2. Apicultura. 3. Própolis. 4. Geoprópolis. 5. Ação neuroprotetora. I. Silva, Luiz Everson da. II Título.

CDD – 638.1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR LITORAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DESENVOLVIMENTO
TERRITORIAL SUSTENTÁVEL - 40001016081P3

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação DESENVOLVIMENTO TERRITORIAL SUSTENTÁVEL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **DAYANE CRYSTINA DA SILVA CENEVIVA**, intitulada: **FORTALECIMENTO DA MELIPONICULTURA NO TERRITÓRIO PARANAENSE: PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA AÇÃO NEUROPROTETORA DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS PRODUZIDA POR ABELHAS NATIVAS DA REGIÃO LITORÂNEA E MICRORREGIÃO DE CURITIBA.**, sob orientação do Prof. Dr. LUIZ EVERSON DA SILVA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

MATINHOS, 18 de Dezembro de 2025.

Assinatura Eletrônica

05/02/2026 15:00:20.0

LUIZ EVERSON DA SILVA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

05/02/2026 16:59:09.0

ROBERTO EDUARDO BUENO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

19/02/2026 10:19:10.0

HELICIO SILVA DOS SANTOS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ)

Dedico à minha doce Maria Luiza, minha inspiração diária e a razão maior
de cada esforço, sonho e conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me sustentar em cada etapa desta jornada, fortalecendo-me diante dos desafios e abençoando-me com sabedoria, perseverança e fé.

À minha família, pelo amor incondicional e apoio constante, em especial ao meu marido, Marcelo, e à minha filha, Maria Luiza, que são minha inspiração diária e minha base em todos os momentos.

Aos meus queridos pais, Maria e Messias; à minha irmã, Daniele; à minha prima, Thayara; e aos meus sogros, Regina e Carlos, por sempre acreditarem, apoiarem e incentivarem meu ingresso nesta jornada acadêmica.

Ao meu orientador, Dr. Luiz Everson, por sua orientação dedicada, incentivo contínuo e pela disponibilização de recursos essenciais para a realização desta pesquisa. Sua confiança foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Dr. Hécio Silva dos Santos e a toda a sua equipe, pelo conhecimento repassado na área de Bioquímica, bem como pela disposição e apoio incondicional durante todo esse processo.

Aos professores Renato Bochicchio e Diomar Augusto de Quadros, pela oportunidade de adentrar o fascinante universo das abelhas nativas e por todo o conhecimento compartilhado com generosidade e entusiasmo.

Ao Engenheiro Agrônomo Carlos Faias, pelo acompanhamento atento, apoio técnico e contribuições valiosas para o desenvolvimento desta metodologia.

À Associação de Meliponicultores de Pontal do Paraná (AME) e à Associação de Meliponicultores de Mandirituba (AMAMEL), pelo acolhimento, pela disposição, pela cooperação na cessão das amostras de própolis e, principalmente, por acreditarem nesta pesquisa. A vocês, e por vocês, todo o meu agradecimento e carinho.

À equipe Rebiflora, André, Adriana, Sharon, Anderson e Janaína, cujo comprometimento, colaboração e entusiasmo tornaram este trabalho possível. Sem vocês, nada disso teria se concretizado.

À minha equipe de trabalho, por todo o apoio, parceria e incentivo ao longo do percurso: Vanessa Marion Andreoli, Luis Eduardo Cunha Thomassim, Vanessa Padilha Wosniak e Mariane Wippel. A presença e o incentivo de vocês foram

fundamentais para que eu pudesse conciliar a vida profissional com os desafios desta trajetória acadêmica.

A todos, meu mais profundo agradecimento.

"A vida das abelhas é um poema de organização, beleza e sacrifício — sem elas, a própria poesia da natureza silenciaria."

Maurice Maeterlinck (1901).

RESUMO

A meliponicultura constitui uma prática que integra princípios da agricultura sustentável e dos saberes tradicionais, além de desempenhar papel estratégico na conservação das abelhas nativas sem ferrão (ASF). Dessa forma, contribui diretamente para o ecodesenvolvimento e para a conservação da biodiversidade. Entre seus subprodutos, se destaca a própolis paranaense, especialmente a geoprópolis azul produzida pela espécie mandaçaia, encontrada exclusivamente no litoral do Paraná, a qual tem despertado interesse em estudos de bioprospecção. O presente estudo avaliou o perfil químico dos extratos etanólicos de própolis/geoprópolis (EEP), bem como a toxicidade aguda (DL₅₀) e os efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes de EEP e frações de diclorometano (FDi) provenientes de duas regiões do Estado: a microrregião de Curitiba (MC) e a região do Litoral (RL). Os ensaios foram realizados em modelo experimental *zebrafish* (*Danio rerio*) adulto. Na microrregião de Curitiba, foram analisados EEP e FDi das espécies de abelhas mandaçaia, jataí e manduri; na região do Litoral, apenas amostras de mandaçaia foram incluídas. Os EEP foram particionados nas frações: aquosa (FAq), diclorometano (FDi), acetato de etila (FAc) e butanol (FBu). A caracterização química dos EEP foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (HPLC/MS). A atividade ansiolítica foi avaliada em *zebrafish* por administração intraperitoneal nas doses de 40, 200 e 400 mg/kg (MC) e 4, 20 e 40 mg/kg (RL), utilizando Diazepam (4 mg/kg) como controle positivo no teste Claro-Escuro. A ação anticonvulsivante foi investigada nas mesmas dosagens, por meio da observação do comportamento durante a progressão dos estágios convulsivos induzidos por Pentilenotetrazol (PTZ). A análise da matriz química revelou a presença de diterpenos, com predominância de diterpenos ácidos, bem como de triterpenos e flavonoides nos extratos etanólicos de própolis (EEP) analisados, tanto da MC quanto da RL. Quanto ao efeito ansiolítico, entre as amostras da MC, apenas a FDi de mandaçaia não indicou efeito significativo; todos os demais EEP e FDi apresentaram efeito equiparável ao Diazepam. A investigação do mecanismo de ação revelou a via GABAérgica para os EEP de mandaçaia e jataí, bem como para a FDi de jataí. Para a FDi de manduri, observou-se envolvimento da via serotoninérgica, por meio da ativação dos receptores 5-HT_{3A/3B}. O efeito anticonvulsivante foi constatado nas três dosagens de EEP de jataí e na dosagem de 200 mg/kg de FDi de manduri, o que representa o aumento da latência para a progressão dos estágios convulsivos. Já para as amostras de mandaçaia da região do Litoral, o efeito ansiolítico foi representativo apenas para a FDi de uma das amostras, exclusivamente na menor dose testada (4 mg/kg), cujo mecanismo de ação indicou a via GABAérgica. Ademais, nenhuma das amostras do litoral, nas dosagens testadas, apresentou efeito anticonvulsivante. Esses resultados sugerem que a própolis/geoprópolis das duas regiões do Paraná têm um efeito ansiolítico e anticonvulsivante promissor, o que pode contribuir para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos naturais associados à identidade e aos recursos do território.

Palavras-chave: Geoprópolis azul; Própolis, Ansiolítico; Anticonvulsivante; Zebrafish.

ABSTRACT

Meliponiculture constitutes a practice that integrates principles of sustainable agriculture and traditional knowledge, while also playing a strategic role in the conservation of native stingless bees (NSB). In this way, it directly contributes to ecodevelopment and biodiversity conservation. Among its by-products, Paraná propolis stands out, particularly the blue geopropolis produced by the *mandaçai* species, found exclusively on the coast of Paraná, which has attracted interest in bioprospecting studies. The present study evaluated the chemical profile of ethanolic extracts of propolis/geopropolis (EEP), as well as the acute toxicity (LD₅₀) and the anxiolytic and anticonvulsant effects of EEP and dichloromethane fractions (FDi) from two regions of the state: the Curitiba microregion (MC) and the Coastal region (RL). The assays were conducted using an adult zebrafish (*Danio rerio*) experimental model. In the Curitiba microregion, EEP and FDi from the stingless bee species *mandaçai*, *jataí*, and *manduri* were analyzed; in the Coastal region, only *mandaçai* samples were included. The EEP were partitioned into the following fractions: aqueous (FAq), dichloromethane (FDi), ethyl acetate (FAc), and butanol (FBu). Chemical characterization of the EEP was performed by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC/MS). Anxiolytic activity was assessed in zebrafish by intraperitoneal administration at doses of 40, 200, and 400 mg/kg (MC) and 4, 20, and 40 mg/kg (RL), using Diazepam (4 mg/kg) as a positive control in the Light–Dark test. Anticonvulsant activity was investigated at the same doses by observing behavioral progression through seizure stages induced by pentylenetetrazole (PTZ). Analysis of the chemical matrix revealed the presence of diterpenes, predominantly acidic diterpenes, as well as triterpenes and flavonoids in the analyzed ethanolic propolis extracts (EEP) from both MC and RL. Regarding anxiolytic effects, among the MC samples, only the *mandaçai* FDi did not show a significant effect; all other EEP and FDi exhibited effects comparable to Diazepam. Investigation of the mechanism of action revealed involvement of the GABAergic pathway for the *mandaçai* and *jataí* EEP, as well as for the *jataí* FDi. For the *manduri* FDi, involvement of the serotonergic pathway was observed, through activation of 5-HT_{3A/3B} receptors. Anticonvulsant effects were observed at all three doses of *jataí* EEP and at the 200 mg/kg dose of *manduri* FDi, as evidenced by increased latency to progression through seizure stages. For the *mandaçai* samples from the Coastal region, a representative anxiolytic effect was observed only for the FDi of one sample, exclusively at the lowest tested dose (4 mg/kg), with the mechanism of action indicating involvement of the GABAergic pathway. Furthermore, none of the Coastal samples exhibited anticonvulsant effects at the tested doses. These findings suggest that propolis/geopropolis from the two regions of Paraná exhibit promising anxiolytic and anticonvulsant properties, which may contribute to the development of natural pharmaceutical products associated with territorial identity and local resources.

Keywords: Blue geopropolis; Propolis; Anxiolytic; Anticonvulsant; Zebrafish.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – COBERTURA VEGETAL ORIGINAL DO ESTADO DO PARANÁ.....	27
FIGURA 2 – UNIDADES DE CONSERVAÇÃO E REMANESCENTES DA COBERTURA VEGETAL.....	28
FIGURA 3 – MECANISMO DE ATIVIDADE SEROTONINÉRGICA NAS CÉLULAS PRÉ-SINÁPTICAS E PÓS-SINÁPTICAS.....	46
FIGURA 4 – <i>ZEBRAFISH</i> ADULTO.....	48
FIGURA 5 – LIMITES DE MANDIRITUBA/PR E INSERÇÃO NA REGIÃO IMEDIATA DE CURITIBA.....	54
FIGURA 6 – LIMITES DOS MUNICÍPIOS DO LITORAL E RESPECTIVAS INDICAÇÕES DOS LOCAIS DE COLETA.....	55
FIGURA 7 – CAIXA RACIONAL E A REMOÇÃO DA TAMPA PARA RASPAGEM DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS.....	57
FIGURA 8 – SEPARAÇÃO DO “GEO” DO EXTRATO ALCOÓLICO DA GEOPRÓPOLIS DE ABELHAS MANDAÇAIA.....	59
FIGURA 9 – EXTRATO DE PRÓPOLIS “SECO” APÓS SECAGEM DO SOLVENTE.....	59
FIGURA 10 – SISTEMA PARA SEPARAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DAS FRAÇÕES	61
FIGURA 11 – TRATAMENTO INDIVIDUAL DO <i>ZEBRAFISH</i> VIA PERITONEAL....	63
FIGURA 12 – ESQUEMA DE APARATO PARA TESTE DE PREFERÊNCIA DO CLARO ESCURO PARA AVALIAÇÃO DE EFEITO ANSIOLÍTICO...65	
FIGURA 13 – ESTÁGIOS CONVULSIVOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICONVULSIVANTE EM <i>ZEBRAFISH</i>	67
FIGURA 14 – GEOPRÓPOLIS DE ABELHA MANDAÇAIA DA MELIPONICULTURA DA MC.....	68
FIGURA 15 – GEOPRÓPOLIS DE ABELHA MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL DO PARANÁ.....	69
FIGURA 16 – POLICROMIA DA PRÓPOLIS/GEOPRÓPOLIS DA MELIPONICULTURA PRATICADA NA MC.....	72
FIGURA 17 – POLICROMIA DA GEOPRÓPOLIS DA REGIÃO DO LITORAL.....	72
FIGURA 18 – CROMATOGRAMA (LC-MS) DO EEP NOS MODOS POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>M. quadrifasciata</i> (1A0924R) DA MC.....	73

FIGURA 19 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>M. quadrifasciata</i> (1A0924R) DA MC74	
FIGURA 20 – SUGESTÕES DE FÓRMULAS ESTRUTURAIS DE ÍONS (M/Z) IDENTIFICADOS NO PERFIL QUÍMICO DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>M. quadrifasciata</i>	81
FIGURA 21 – CROMATOGRAMA (LC-MS) DO EEP NOS MODOS POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>M. quadrifasciata</i> DA REGIÃO DO LITORAL.....	84
FIGURA 22 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>M. quadrifasciata</i> (6A1224RR)	84
FIGURA 23 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>M. quadrifasciata</i> (7A1224EL)	85
FIGURA 24 – CROMATOGRAMA (LC-MS) DO EEP NOS MODOS POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA PRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>T. angustula</i> (2B1024)	90
FIGURA 25 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA PRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>T. angustula</i> (2B1024).....	90
FIGURA 26 – SUGESTÕES DE FÓRMULAS ESTRUTURAIS DE ÍONS (M/Z) IDENTIFICADOS NO PERFIL QUÍMICO DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>T. angustula</i>	94
FIGURA 27 – CROMATOGRAMA (LC-MS) DO EEP NOS MODOS POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DAS PRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>M. marginata</i> (2C1024).....	97
FIGURA 28 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA PRÓPOLIS 2C1024	97
FIGURA 29 – SUGESTÕES DE FÓRMULAS ESTRUTURAIS DE ÍONS (M/Z) IDENTIFICADOS NO PERFIL QUÍMICO DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE <i>M. marginata</i>	103

FIGURA 30 – OBSERVAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DAS AMOSTRAS EM <i>ZEBRAFISH</i>	106
FIGURA 31 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE EEP E FDi DE GEOPRÓPOLIS (ESPÉCIE MANDAÇAIA) EM <i>ZEBRAFISH</i> ADULTO NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN).....	108
FIGURA 32 – EFEITO DO EEP DE GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE MANDAÇAIA NA NEUROMODULAÇÃO GABAÉRGICA EM <i>ZEBRAFISH</i> NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN).....	109
FIGURA 33 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE EEP E FDi DE PRÓPOLIS (ESPÉCIE JATAÍ) EM <i>ZEBRAFISH</i> NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN).....	110
FIGURA 34 – EFEITO DO EEP E FDi DE PRÓPOLIS DA ESPÉCIE JATAÍ NA NEUROMODULAÇÃO GABAÉRGICA EM <i>ZEBRAFISH</i> NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN).....	110
FIGURA 35 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE FDi (MANDURI) EM <i>ZEBRAFISH</i> NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN).....	111
FIGURA 36 – EFEITO DE FDi DE PRÓPOLIS DE MANDURI NA NEUROMODULAÇÃO GABAÉRGICA EM <i>ZEBRAFISH</i> NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN).....	111
FIGURA 37 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANSIOLÍTICO DE FDi DE PRÓPOLIS DE ABELHA MANDURI E A NEUROMODULAÇÃO SEROTONINÉRGICA EM <i>ZEBRAFISH</i> , COM PRÉ-TRATAMENTO COM GRANISETRON	112
FIGURA 38 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANSIOLÍTICO DE FDi DE PRÓPOLIS DE ABELHA MANDURI E A NEUROMODULAÇÃO SEROTONINÉRGICA EM <i>ZEBRAFISH</i> , COM PRÉ-TRATAMENTO COM CIPROEPTADINA E PIZOTIFENO	113
FIGURA 39 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE EEP DE GEOPRÓPOLIS DE ABELHA MANDAÇAIA DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA	115
FIGURA 40 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE EEP DE PRÓPOLIS DE ABELHA JATAÍ DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA	116

FIGURA 41 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE FDi DE PRÓPOLIS DE ABELHA JATAÍ DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA	117
FIGURA 42 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE FDi DE PRÓPOLIS DE ABELHA MANDURI DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA	118
FIGURA 43 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE EEP E FDi DA ESPECIE MANDAÇAIA (6A1224RR) EM <i>ZEBRAFISH</i> NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)	120
FIGURA 44 – EFEITO DA FDi DE MANDAÇAIA (6A1224RRFRDCL) NA NEUROMODULAÇÃO GABAÉRGICA EM <i>ZEBRAFISH</i> NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN).....	121
FIGURA 45 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE EEP E FDi DE ESPECIE MANDAÇAIA (7A1224EL) EM <i>ZEBRAFISH</i> NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)	122
FIGURA 46 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE EEP DE MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL (6A1224RR).....	124
FIGURA 47 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE FDi DE MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL (6A1224RR).....	125
FIGURA 48 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE EEP DE MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL (7A1224EL).....	127
FIGURA 49 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE FDi DE GEOPRÓPOLIS DE ABELHA MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL (7A1224EL).....	128
FIGURA 50 – TESTE DE CAMPO ABERTO (OFT) PARA AVALIAÇÃO DE EEP E FDi DE MANDAÇAIA (6A1224RR) NA DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DE <i>ZEBRAFISH</i>	129
FIGURA 51 – TESTE DE CAMPO ABERTO (OFT) PARA AVALIAÇÃO DE EEP E FDI DE MANDAÇAIA (7A1224EL) NA DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DE <i>ZEBRAFISH</i>	130

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA MICRORREGIÃO DE CURITIBA	55
TABELA 2 – DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA REGIÃO DO LITORAL	56
TABELA 3 – RENDIMENTO MÉDIO DO EEP PARA AS AMOSTRAS DA MC E RL70	
TABELA 4 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO POSITIVO [M+H] DA AMOSTRA DE GEOPRÓPOLIS (<i>M. quadrifasciata</i>) DA MC	74
TABELA 5 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO NEGATIVO [M-H] DA AMOSTRA DE GEOPRÓPOLIS (<i>M. quadrifasciata</i>) DA MC	77
TABELA 6 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS (<i>M. quadrifasciata</i>) DA REGIÃO DO LITORAL	85
TABELA 7 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO POSITIVO [M+H] DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS (<i>T. angustula</i>) DA MC	91
TABELA 8 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO NEGATIVO [M-H] DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS (<i>T. angustula</i>) DA MC	93
TABELA 9 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO POSITIVO [M+H] DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS (<i>M. marginata</i>) DA MC	98
TABELA 10 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO NEGATIVO [M-H] DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS (<i>M. marginata</i>) DA MC	100
TABELA 11 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE EEP E FDI DE GEOPRÓPOLIS DE <i>M. quadrifasciata</i> DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA	107
TABELA 12 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE EEP E FDI DE GEOPRÓPOLIS DE <i>M. quadrifasciata</i> DA REGIÃO DO LITORAL..	107

TABELA 13 – QUADRO RESUMO COMPARATIVO DOS EFEITOS ANSIOLÍTICOS E ANTICONVULSIVANTES EM <i>ZEBRAFISH</i> DAS AMOSTRAS DA MC E RL.....	131
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

5-HT	- 5-Hidroxitriptamina
AMAMEL	- Associação de Meliponicultores de Mandirituba
AME	- Associação de Meliponicultores de Pontal do Paraná
ANOVA	- Análise de Variância
CL	- Cruzamento de Linhas
BZD	- Benzodiazepínicos
DL ₅₀	- Dose Letal capaz de matar 50% da população
DMSO	- Dimetilsulfóxido
DA	- Dalton (Unidade de massa atômica)
DZP	- Diazepam
EEP	- Extratos Etanólicos de Própolis/Geopropolis
EHPV	- Extrato Hidroalcoólico de Própolis Vermelha
FAc	- Fração de Acetato de Etila
FAq	- Fração Aquosa
FBu	- Fração de Butanol (Álcool N-Butílico)
FDi	- Fração de Diclorometano
FLX	- Fluoxetina
FLZ	- Flumazenil
GABA	- Ácido gama-aminobutírico
GAD	- Glutamato Descarboxilase
HHA	- Hipotálamo-hipófise-adrenal
<i>I.P</i>	- Intraperitoneal
MC	- Microrregião de Curitiba
ISRS	- Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina
OEP	- Extrato Oleoso de Própolis
OFT	- Open Field Test
PCZ	- Permanência na Zona Clara
PIB	- Produto Interno Bruto
PTZ	- Pentilenotetrazol
RL	- Região do Litoral
RMC	- Região Metropolitana de Curitiba
SNC	- Sistema Nervoso Central

SNP	- Sistema Nervoso Periférico
TAG	- Transtorno de Ansiedade Generalizada
TEPT	- Transtorno de Estresse Pós-traumático
TOC	- Transtorno Obsessivo Compulsivo
UC	- Unidades de Conservação
VS	- Versus
ZFa	- <i>Zebrafish</i>
©	- Copyright
®	- Marca Registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 HIPÓTESES	23
1.2 OBJETIVOS	24
1.2.1 Objetivo Geral	24
1.2.2 Objetivos Específicos	24
2 REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1 DESAFIOS PARA A CONSERVAÇÃO DA FLORESTA ATLÂNTICA	25
2.1.1 A FLORESTA COM ARAUCÁRIAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA.....	30
2.1.2 A FLORESTA ATLÂNTICA NO LITORAL PARANAENSE.....	31
2.2 A IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS NATIVAS PARA A MATA ATLÂNTICA	33
2.3 MELIPONICULTURA E O ECODESENVOLVIMENTO.....	36
2.4 PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS NA MODULAÇÃO DA ANSIEDADE E DA CONVULSÃO.....	39
2.5 ALTERNATIVAS NATURAIS PARA A TRATAMENTO DE ANSIEDADE E CONVULSÃO.....	44
2.6 O <i>ZEBRAFISH</i> COMO MODELO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL	48
3 ASPECTOS METODOLÓGICOS	51
3.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA.....	51
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE PESQUISA, POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	52
4 MATERIAIS E MÉTODOS	56
4.1.1 Coleta de Própolis/Geoprópolis e acondicionamento	56
4.1.2 Preparação dos extratos de Própolis/Geoprópolis	57
4.1.3 Policromia.....	58
4.1.4 Partição Líquido-Líquido dos extratos	60
4.1.5 Análise da composição química dos extratos de Própolis/Geoprópolis	61
4.1.6 Bioensaios com <i>zebrafish</i>	62
4.1.6.1 Drogas e reagentes	63
4.1.6.2 Avaliação da toxicidade aguda 96h	63
4.1.6.3 Avaliação da atividade locomotora (Teste de Campo Aberto - OFT)	64
4.1.6.4 Avaliação da ação ansiolítica	64
4.1.6.5 Avaliação da neuromodulação GABAérgica.....	65

4.1.6.6 Avaliação da neuromodulação Serotoninérgica	66
4.1.6.7 Avaliação do efeito anticonvulsivante	66
4.1.6.8 Análise estatística	67
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	68
5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS/GEOPRÓPOLIS DA MC	68
5.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS/GEOPRÓPOLIS DA RL	69
5.2.1 Cálculo do Rendimento dos Extratos Etanólicos	70
5.2.2 Análises de policromia	71
5.2.3 Perfil químico das geoprópolis de <i>M. quadrifasciata</i> da MC e RL	73
5.2.4 Perfil químico das própolis de <i>T. angustula</i> da MC	89
5.2.5 Perfil químico das própolis de <i>M. marginata</i> da MC	96
5.2.6 Toxicidade aguda do EEP e FDi da própolis/geoprópolis da MC	106
5.2.7 Toxicidade aguda do EEP e FDi da geoprópolis da RL	107
5.2.8 Análise da ação ansiolítica e via de neuromodulação de EEP e FDi da própolis/geoprópolis da MC	108
5.2.9 Análise da ação anticonvulsivante do EEP e FDi da própolis/geoprópolis da MC	115
5.2.10 Análise da ação ansiolítica e via de neuromodulação de EEP e FDi da geoprópolis da RL	120
5.2.11 Análise da ação anticonvulsivante do EEP e FDi da geoprópolis da RL	124
5.2.12 Teste de Campo Aberto – OFT	128
5.2.13 Quadro comparativo dos efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes em <i>zebrafish</i>	131
5.3 POSSÍVEIS IMPACTOS NO DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO TERRITÓRIO	132
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	133
REFERÊNCIAS	134

1 INTRODUÇÃO

As paisagens pertencentes à Floresta Atlântica situam-se no bioma Mata Atlântica, caracterizado por sua elevada biodiversidade e relevância ecológica, ao mesmo tempo em que figura entre os ecossistemas mais degradados do mundo (Castelo Branco, 2022; Torres; Tiepolo, 2022). Tamanha é sua relevância ecológica e estado de ameaça que a floresta atlântica foi considerada a 4.^a posição na lista dos *hotspots* mundiais da biodiversidade para a conservação (Myers *et al.*, 2000). Das estratégias para conservação dessas paisagens destaca-se a destinação de áreas na forma de Unidades de Conservação (Tiepolo, 2015; Torres; Tiepolo, 2022).

Dentre os organismos nativos fundamentais para a manutenção do equilíbrio ecológico no bioma da Mata Atlântica, destacam-se as abelhas sem ferrão da tribo Meliponini (Barbieri Junior; Franco, 2020; Nogueira Neto, 1997; Silva; Santos, 2023; Silva *et al.*, 2016), conhecidas pela sigla “ASF”, segundo nomenclatura proposta por Nogueira Neto (1997) e Kerr (1996), ou ainda, por abelhas indígenas.

O valor ecológico das ASF reside, principalmente, no papel que desempenham como polinizadoras primárias de diversas espécies da flora nativa brasileira (Lavinhas *et al.*, 2019), bem como de dezenas de espécies de cultivares agrícolas de relevância econômica (Barbieri Junior; Franco, 2020). Apesar do reconhecimento desses polinizadores, nas últimas décadas observou-se uma drástica redução populacional das abelhas, reforçando a necessidade de ações efetivas para a conservação desses insetos, essenciais à sustentabilidade ecológica.

A meliponicultura consiste no manejo racional das ASF, incluindo a manutenção dos ninhos e a multiplicação dos enxames, funcionando como uma estratégia eficaz para a conservação dessas espécies, além de gerar benefícios econômicos e ecológicos. Entre os produtos mais relevantes, destaca-se a própolis, que atrai o interesse de pesquisadores na bioprospecção de compostos bioativos na Floresta Atlântica, devido às suas propriedades farmacológicas notáveis, como ações antimicrobianas, antiparasitárias, antivirais, antitumorais, citotóxicas e antioxidantes (Bankova, 2005; Jansen, 2015; Santos, 2023).

Muitos estudos atribuem as atividades biológicas da própolis às elevadas concentrações de compostos fenólicos, particularmente aos flavonoides (Ferreira, 2017; Reis *et al.*, 2014). Estes fitoquímicos constituem um grupo de substâncias com considerável atividade antioxidante, capazes de neutralizar radicais livres que podem

comprometer o funcionamento celular. Reis *et al.* (2014) ao avaliar o potencial antioxidante de extratos oleosos de própolis (OEP) sugerem que tal efeito guarda relação direta com efeitos ansiolíticos e antidepressivos, haja vista a similaridade de atuação no Sistema Nervoso Central (SNC) de ratos.

Esses estudos demonstram relevância na medida em que abordam questões da saúde pública contemporânea: os transtornos de ansiedade, depressão e convulsão. Os transtornos de ansiedade estão atualmente classificados entre as dez maiores causas incapacitante no mundo, sendo que o Brasil lidera o ranking mundial, além de ocupar a quinta posição global em relação às taxas de depressão (Guedes *et al.*, 2022). Por sua vez, a convulsão é uma desordem neurológica caracterizada por crises recorrentes e espontâneas, capazes de comprometer as funções físicas, cognitivas e comportamentais do organismo, afetando mais de 50 milhões de indivíduos em todo o mundo (Ferreira, 2022).

Embora a ansiedade e a depressão apresentem elevadas taxas de prevalência como transtornos psiquiátricos, o tratamento convencional dessas condições permanece inalterado há pelo menos cinco décadas, baseando-se predominantemente no uso de benzodiazepínicos (Guedes *et al.*, 2022) e de inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS) (Ferreira, 2022). Apesar da eficácia comprovada na atenuação dos sintomas associados às crises de ansiedade, o uso contínuo desses fármacos está frequentemente relacionado a distintos efeitos adversos (Benneh *et al.*, 2017; Ferreira *et al.*, 2020; Guedes *et al.*, 2022). Por sua vez, no tratamento das convulsões, os medicamentos disponíveis no mercado, embora eficazes como anticonvulsivantes, são desprovidos de ação ansiolítica, o que evidencia a importância da busca por substâncias capazes de associar efeitos ansiolíticos ou anticonvulsivantes (Ferreira, 2022).

A atividade ansiolítica da própolis já foi observada em camundongos nos estudos de Reis *et al.* (2014), e o efeito anticonvulsivante foi identificado, também em camundongos nos estudos de Oliveira *et al.* (2021), no entanto, há uma enorme carência de pesquisas clínicas em estudos farmacológicos. Os estudos principais relatam os efeitos antimicrobianos, antioxidantes, antitumorais, citotóxicos e anti-inflamatórios da própolis, porém no que tange aos seus efeitos diretos sobre o sistema nervoso central, especialmente os ansiolíticos e anticonvulsivantes, poucos são os relatos da literatura.

Além disso, no campo da neurociência adotar um modelo alternativo de experimentação animal, como o *zebrafish* (*Danio rerio*) pode contribuir na elucidação de diversas doenças que acometem o SNC, dadas as semelhanças genéticas, anatômicas e fisiológicas com outros vertebrados, o que demonstra a viabilidade e a confiabilidade desse modelo vivo para pesquisas experimentais (Ferreira, 2022).

Ademais, no litoral paranaense, Santos (2023) mencionou em seus estudos que meliponicultores regionais observaram um tipo de geoprópolis produzida pelas abelhas mandaçaia (*M. quadrifasciata*) de coloração azul, apontando ainda que, para essa tonalidade não há aprofundamentos de pesquisas, o que fundamenta a importância desse composto para pesquisas em bioprospecção.

Os recursos proporcionados pela meliponicultura favorecem a conservação das espécies de abelhas nativas, além de representarem uma oportunidade para o desenvolvimento de fármacos naturais alternativos (Barbieri Junior; Franco, 2020). Nesse contexto, a avaliação do potencial ansiolítico e anticonvulsivante da própolis e da geoprópolis produzidas por abelhas sem ferrão de regiões do Estado do Paraná constitui um avanço significativo no entendimento dessas substâncias como medicamentos naturais, ao mesmo tempo em que contribui para a valorização dos produtos derivados dessa atividade.

Dado o potencial farmacológico que possibilita a agregação de valor a esse composto enquanto fármaco de origem natural, o fomento da sua produção por meio da expansão e do fortalecimento da meliponicultura podem ser interessantes estratégias para a conservação da biodiversidade e gestão dos recursos naturais (Santos, 2023).

O presente estudo buscou investigar e responder a seguinte pergunta: “A própolis e a geoprópolis das abelhas mandaçaia (*M. quadrifasciata*), jataí (*T. angustula*) e manduri (*M. marginata*) da microrregião de Curitiba, assim como a geoprópolis da mandaçaia da região do litoral do Paraná, apresentam toxicidade aguda, potencial ansiolítico e anticonvulsivante em *zebrafish* adultos (*Danio rerio*)?”

1.1 HIPÓTESES

O delineamento experimental foi desenvolvido e testado para as seguintes hipóteses:

- A própolis e geoprópolis oriundas das abelhas nativas das espécies mandaçaia (*M. quadrifasciata*), jataí (*T. angustula*) e manduri (*M. marginata*) provenientes da meliponicultura praticada na microrregião de Curitiba, apresentam toxicidade aguda, potencial ansiolítico e anticonvulsivante em modelo vivo *zebrafish* (*Danio rerio*) adulto.

- A geoprópolis oriunda das abelhas nativas da espécie mandaçaia (*M. quadrifasciata*), proveniente da meliponicultura praticada região do litoral paranaense, apresenta toxicidade aguda, potencial ansiolítico e anticonvulsivante em modelo vivo *zebrafish* (*Danio rerio*) adulto.

As hipóteses foram testadas de acordo com a metodologia desenvolvida para esse estudo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial biológico da própolis e da geoprópolis produzidas pelas abelhas nativas sem ferrão das espécies mandaçaia (*M. quadrifasciata*), jataí (*T. angustula*) e manduri (*M. marginata*).

1.2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o perfil químico de extratos etanólicos de própolis e de geoprópolis produzidas pelas abelhas sem ferrão das espécies *M. quadrifasciata*, *T. angustula* e *M. marginata*.

- Avaliar a toxicidade aguda, o efeito ansiolítico e respectivo mecanismo de neuromodulação, bem como o efeito anticonvulsivante exercido pelos extratos e frações de diclorometano de própolis e de geoprópolis produzidas pelas abelhas das espécies *M. quadrifasciata*, *T. angustula* e *M. marginata*.

- Difundir os resultados para os meliponicultores das associações AMAMEL e AME.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DESAFIOS PARA A CONSERVAÇÃO DA FLORESTA ATLÂNTICA

O Brasil integra grandes extensões de biomas em diferentes estados de conservação, embora muitas dessas áreas ainda não tenham sido amplamente desvendadas por cientistas (Joly *et al.*, 2022). O bioma Mata Atlântica primitivamente estendia-se ao longo da costa brasileira até a porção leste do Paraguai e nordeste da Argentina, sendo a segunda maior floresta pluvial tropical da América (SOS Mata Atlântica, 2024; Tabarelli *et al.*, 2005).

O bioma Mata Atlântica se distribui em 17 estados da federação brasileira e está projetada em 15% do território nacional, além de contemplar áreas em outros países, como Argentina, Paraguai e Uruguai. É nesse bioma que residem 72% dos brasileiros e se concentra cerca de 80% do PIB nacional (SOS Mata Atlântica, 2024). Ademais, a floresta atlântica incorpora uma das mais ricas biodiversidades, sendo um dos maiores repositórios de riqueza biológica do mundo (Myers *et al.*, 2000).

No Brasil, a Floresta Atlântica foi a primeira a ser colonizada e, desde então, tem sido ostensivamente explorada, o que culminou no seu grande estado de devastação. De fato, foi dessa floresta que partiu a primeira riqueza natural explorada pelos colonizadores, a madeira. Outros ciclos de exploração se sucederam, somados a processos intensos de urbanização, com a instalação dos maiores núcleos industriais e populacionais, o que ocasionou a perda drástica da sua cobertura florestal original (Dean, 1996), em mais de 93% da área (Myers *et al.*, 2000).

Conforme dados publicados pela Fundação SOS Mata Atlântica e INPE (2024), em apenas um ano, entre 2022 e 2023, o desmatamento total na Mata Atlântica avançou de 74 para 81 hectares, o que equivale a uma perda de área de mais de 200 campos de futebol por dia, e demonstra que a devastação do bioma segue em ritmo acelerado. As consequências mais drásticas envolvem desde a perda de habitats naturais e da biodiversidade até o comprometimento dos serviços ecossistêmicos fundamentais para a manutenção do equilíbrio ecológico (Castelo Branco, 2022; Tabarelli *et al.*, 2005).

Tamanho é seu estado de ameaça que o bioma Mata Atlântica foi considerado a 4.^a posição na lista dos *hotspots* mundiais da biodiversidade para a conservação (Myers *et al.*, 2000), cujos critérios de classificação envolvem a alta riqueza de

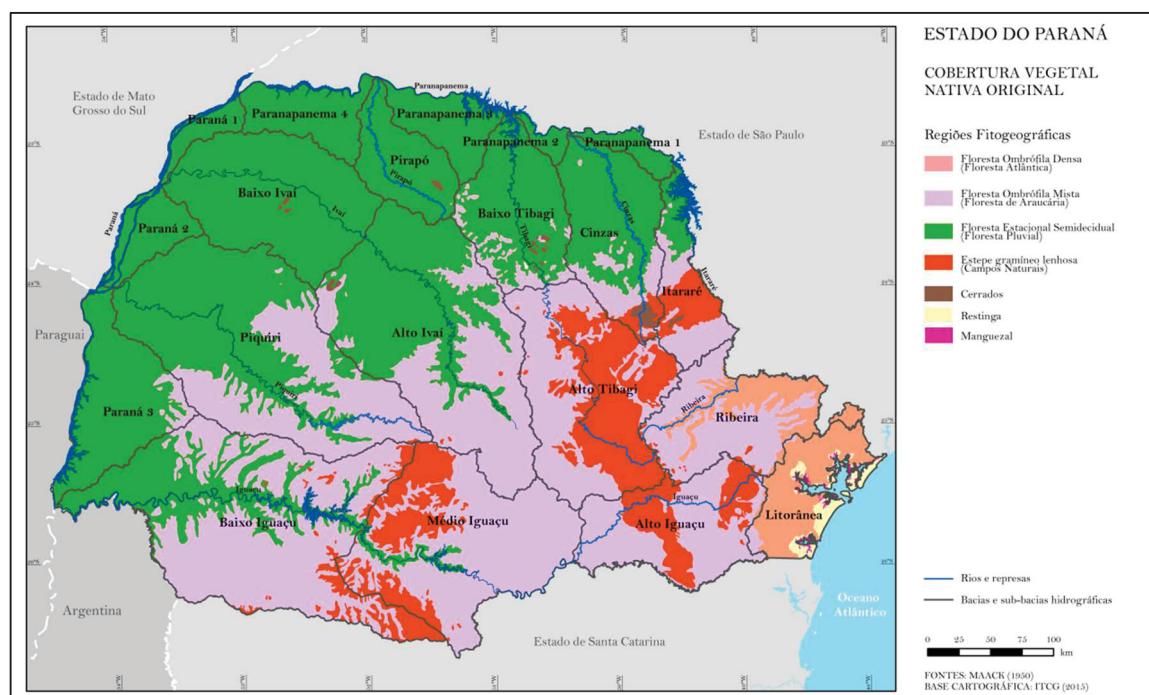
espécies endêmicas e o estado de ameaças e pressões sobre elas. Além da importância ecológica, a Floresta Atlântica ainda é fundamental no quesito social, visto que é responsável por regular os fluxos hídricos, garantir a fertilidade do solo, regular o clima, proteger escarpas e encostas de serras, além de preservar um patrimônio cultural e natural (SOS Mata Atlântica, 2024).

Originalmente, o Estado do Paraná dispunha de 83% da sua área geográfica coberta por florestas, as quais conservavam a maioria das unidades fitogeográficas da Mata Atlântica identificadas no Brasil. Na região sul, caracteriza-se a Floresta Ombrófila Mista (FOM), com formações florestais típicas do Planalto Meridional, e ocorrências disjuntas na região Sudeste e em países vizinhos, como Argentina e Paraguai. Essa fitofisionomia ocorre predominantemente em altitudes que variam entre 800 e 1.200 metros acima do nível do mar, embora possa, ocasionalmente, ser registrada em altitudes superiores a esse intervalo (Roderjan *et al.*, 2002). Especificamente a porção leste dessa área é representada por um contínuo de vegetação delimitada pela Serra do Mar, uma verdadeira barreira geográfica natural (Roderjan *et al.*, 2002).

Na microrregião de Curitiba (IBGE, 2022) ou ainda, na região metropolitana de Curitiba, se reconhece a Floresta Ombrófila Mista, também denominada “floresta de araucária”, cujo representante de destaque é a conífera *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Mussio *et al.*, 2022; Roderjan *et al.*, 2002). A relevância dessa formação vegetal supera sua diversidade florística, destacando-se também pelo valor socioeconômico de suas espécies, tanto madeireiras quanto não madeireiras. Historicamente, tais recursos sustentaram o primeiro ciclo econômico de grande expressão na região sul do Brasil, marcado por práticas extrativistas (Mussio *et al.*, 2022).

Já na porção da Serra do Mar que adentra o Paraná, cuja altitude máxima é de 1887 m, caracteriza-se a Floresta Ombrófila Densa com influência direta das massas de ar quentes e úmidas, além das chuvas intensas e frequentes (Roderjan *et al.*, 2002). Segundo Tiepolo (2015) essa matriz florestal de área de 6.058 km² representa um reduto natural em relativo grau de conservação, derivado, possivelmente, das singularidades fisiográficas que compõem o relevo da Serra do Mar (Pierri *et al.*, 2006; Torres; Tiepolo, 2022). A cobertura vegetal nativa original do Estado do Paraná e as respectivas regiões fitogeográficas originais podem ser observadas na Figura 1.

FIGURA 1 – COBERTURA VEGETAL ORIGINAL DO ESTADO DO PARANÁ



FONTE: Paraná (2015).

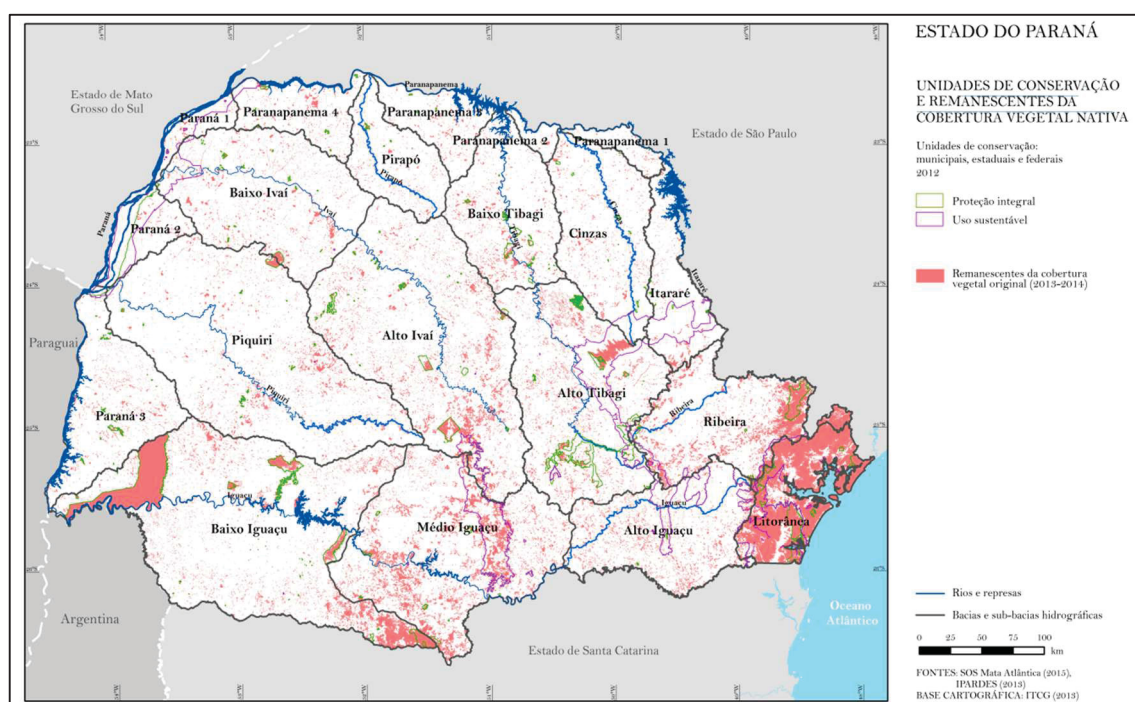
A destinação de paisagens naturais como Unidades de Conservação (UC) é uma estratégia para a proteção dessas áreas, respaldada legalmente pela Lei federal nº 9.985/2000 que estabelece o Sistema Nacional das Unidades de Conservação (Brasil, 2000). Essa legislação estabelece duas categorias principais de UCs: proteção integral e uso sustentável. A primeira é caracterizada por restrições mais rigorosas, o que contribui para uma conservação ambiental mais efetiva. De acordo com a Fundação SOS Mata Atlântica (2024), embora tenha sido registrada, no referido ano, a perda de 143,66 km² de florestas no bioma, apenas 0,7% do desmatamento ocorreu em áreas protegidas, enquanto 72% foi identificado em propriedades privadas. Esses dados evidenciam a relevância das Unidades de Conservação como instrumento de proteção dos remanescentes florestais.

Contudo, a idealização das Unidades de Conservação como solução definitiva para a conservação das paisagens naturais pode estar equivocada. Uma ressalva de Tabarelli *et al.* (2005) é que as UCs pertencentes à categoria de proteção integral resguardam cerca de 24% dos remanescentes florestais e abrangem, de forma bastante limitada, aproximadamente 2%, a extensão total do bioma Mata Atlântica (Tabarelli *et al.*, 2005). No que se refere ao litoral do Estado do Paraná, conforme relata Tiepolo (2015), menos de 948 mil hectares do território são protegidos pelo

Sistema Nacional de Unidades de Conservação, sendo que, pouco mais de 185 mil hectares desse total foram destinados à proteção integral, o que levanta o questionamento sobre a eficácia de fato desse montante de áreas protegidas.

Outra ressalva remete ao tamanho reduzido dos fragmentos florestais, mesmo os que são destinados à UCs de proteção integral, uma vez que estima-se que 75% das áreas protegidas tenham menos de 100 km², o que inviabiliza a preservação das espécies e dos ecossistemas a longo prazo (Tabarelli *et al.*, 2005). Na Figura 2 podem ser observados os remanescentes florestais nativos originais e as delimitações das UCs dos grupos de Proteção Integral e de Uso Sustentável, no Estado do Paraná.

FIGURA 2 – UNIDADES DE CONSERVAÇÃO E REMANESCENTES DA COBERTURA VEGETAL



FONTE: Paraná (2013).

Outra estratégia de destaque consiste na bioprospecção, associada ao incentivo à pesquisa científica voltada à identificação e aprofundamento do potencial dos recursos naturais que integram o bioma Mata Atlântica (Dean, 1996). Segundo Saccaro Júnior (2011) a bioprospecção remeta à busca ativa e metódica de recursos genéticos, como os genes, as enzimas, os hormônios, os produtos metabólicos, os processos bioquímicos e outros, que possam conter um potencial econômico e, ocasionalmente, levar ao desenvolvimento tecnológico de um produto. Assim, parte-se do pressuposto de que, à medida que a biodiversidade for devidamente

reconhecida por seu valor intrínseco, e esse valor for refletido de forma justa em políticas e práticas socioeconômicas, haverá maior estímulo à sua conservação (Silva; Dotto; Rebelo, 2022).

O conceito universal de Biodiversidade ou Diversidade Biológica ratificado pela Convenção sobre a Diversidade Biológica (CDB), que entrou em vigor em dezembro de 1993, trata da variabilidade dos organismos vivos de todas as origens, compreendendo, dentre outros, os ecossistemas terrestres, marinhos e outros ecossistemas aquáticos e os complexos ecológicos de que fazem parte, incluindo ainda a diversidade dentro das espécies, entre as espécies e de ecossistemas (Brasil, 2024).

É notável que essa definição mais clássica faz referência à diversidade genética como a principal responsável pela variação entre indivíduos e populações. Relevante notar que as unidades evolutivas ocorrem a nível de espécies e de populações, que interagem entre si no espaço e no tempo (Joly *et al.*, 2011; Saccaro Junior, 2011).

De todas as consequências da degradação dos biomas e redução de habitats, a perda da biodiversidade é a que encabeça as maiores preocupações. Isso ocorre porque além de todo o valor ético e estético, o conjunto dos seres vivos é responsável por desempenhar serviços ecossistêmicos indispensáveis à manutenção da vida em todas as suas formas, a saber, serviços de provisão de alimentos, provisão de água, serviços de regulação climática, regulação de ciclagem de nutrientes, polinização, dentre tantos outros (Saccaro Junior, 2011).

Nesse contexto, o Brasil desempenha um papel-chave, já que é detentor de uma das maiores biodiversidades do planeta. Porém, historicamente no país, os recursos ambientais permanecem explorados de forma predatória, como por exemplo, a derrubada de florestas e a destinação dessas áreas para fins agrícolas e pecuários. É uma intensa devastação para um ganho econômico irrisório a curto prazo, já que essas atividades esgotam os solos, o que termina na sua completa inutilização a longo prazo. É necessária a mudança de paradigma, ou seja, a reversão do pensamento e a ciência de que a “floresta em pé” tem muito mais valor (Saccaro Junior, 2011).

Apesar da imensa biodiversidade, o potencial econômico oriundo dessa riqueza é difícil de ser definido, visto que não há um levantamento preciso das atividades econômicas relacionadas aos recursos naturais (Joly *et al.*, 2011).

Costanza *et al.* (2014) estima para a biodiversidade uma valoração monetária da ordem de centenas de trilhões de dólares ao ano.

O país possui o cenário ideal para o desenvolvimento de pesquisas que visem a descoberta do potencial de suas espécies, em especial de fitoterápicos, o que não ocorre comumente, haja vista que o Brasil segue na posição de exportador de matérias-primas da sua própria biodiversidade (Joly *et al.*, 2011). A bioprospecção é uma alternativa interessante que pode impulsionar o uso sustentável dos seus recursos ambientais e promover o ecodesenvolvimento do território (Joly *et al.*, 2011; Sachs, 1986).

Outrossim, a microrregião de Curitiba e, em especial a região litorânea do Estado do Paraná com suas expressivas áreas de vegetação de um bioma tão essencial, encontram terreno fértil para o aprofundamento de pesquisas em bioprospecção, a qual pode ser uma das principais estratégias de valoração do patrimônio genético nessa região (Gemim; Silva; Schaffrath, 2022; Joly *et al.*, 2011).

2.1.1 A FLORESTA COM ARAUCÁRIAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA

A Floresta Ombrófila Mista (FOM), conhecida, como “pinheiral” ou “mata-de-araucária”, está distribuída nos três Estados da região sul do Brasil (IBGE, 2012). Essa fitofisionomia, típica do Planalto Meridional, tem início no Primeiro Planalto Paranaense, a oeste da Serra do Mar, e se estende pelos Segundo e Terceiro Planaltos (Reginato; Goldenberg, 2007). Seu principal representante florístico é a araucária (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) – Araucariaceae, também conhecida como pinheiro-do-paraná ou pinheiro-brasileiro, espécie símbolo que confere valor identitário à região. A distribuição dessa conífera revela variações estruturais e fisionômicas ao longo do território sul-brasileiro (Reginato; Goldenberg, 2007), sendo possível identificar ocorrências dessa formação florestal em áreas de refúgio situadas nas Serras do Mar e da Mantiqueira (IBGE, 2012). Essa fitofisionomia encontra-se entre 800 e 1200 m, podendo ocorrer acima desses limites (Roderjan *et al.*, 2002).

Na área de projeção da FOM, as chuvas são bem distribuídas ao longo do ano, apesar de não dispor de influência direta do oceano. A vegetação é influenciada

pelas temperaturas mais baixas e também pela ocorrência regular de geadas no inverno (Roderjan *et al.*, 2002).

De acordo com o IBGE (2012), a Floresta Ombrófila Mista (FOM) pode ser subdividida em quatro formações distintas: Aluvial, Submontana, Montana e Altomontana, de acordo com a variação de altitude e latitude em que se desenvolve. Contudo, para Roderjan *et al.* (2002), no Estado do Paraná, não são observadas as formações submontanas, enquanto as formações altomontanas ocupam uma área pouco expressiva, caracterizadas de forma semelhante às formações montanas, com menor diversidade, considerando o rigor climático.

Originalmente, a Floresta de Araucária se distribuía de forma contínua entre os três Estados da região sul do país, além de manchas nos estados da região sudeste como Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo (IBGE, 2012). Entretanto, tal como ocorre com as demais formações florestais pertencentes ao bioma Mata Atlântica, as áreas originalmente ocupadas pela Floresta Ombrófila Mista sofreram com ostensivos processos de desmatamentos, resultando em uma expressiva redução de sua cobertura ao longo do tempo. Tal cenário resulta, sobretudo, da exploração madeireira intensiva, da conversão de áreas naturais para atividades agropecuárias e da expansão urbana desordenada, fatores que exerceram pressão direta sobre a vegetação nativa ao longo das últimas décadas (Mussio *et al.*, 2022; Reginato; Goldenberg, 2007).

2.1.2 A FLORESTA ATLÂNTICA NO LITORAL PARANAENSE

A Serra do Mar atua como uma barreira natural que dificulta a passagem dos ventos úmidos provenientes do oceano, os quais transportam elevada carga de umidade e nutrientes. Ao atingirem altitudes em torno de 1000 metros, esses ventos sofrem condensação, resultando na formação de neblinas e no acúmulo de umidade, tão característicos da vertente da Serra do mar (Accioly, 2013). No Estado do Paraná ocorre o encontro entre duas correntes marinhas, uma fria proveniente das Maldivas e outra quente originária do Equador. O encontro destas correntes faz com que a umidade seja maior nesta transição causando grande influência na composição da Serra do Mar (Accioly, 2013).

A Floresta Pluvial Tropical, denominada pelo IBGE (2012) como Floresta Ombrófila Densa (FOD), é típica nessa região sul do país, e consiste num

prolongamento da floresta atlântica que originalmente acompanhava a costa brasileira, desde os Estados do Rio Grande do Norte (Blum, 2013) até o Rio Grande do Sul. Nessa formação florestal qualificam-se ambientes ombrófilos mantidos graças aos fatores climáticos tropicais, típicos das temperaturas elevadas e das altas precipitações. Destacam-se exemplares arbóreos de grande porte, com riqueza de lianas, plantas lenhosas e epífitas. A umidade elevada associada às temperaturas qualificam uma vegetação exuberante, em tamanho de indivíduos arbóreos, rapidez de crescimento e riqueza florística (Blum, 2013).

Dentro desse domínio florestal existem subdivisões de formações, organizadas conforme uma hierarquia topográfica (IBGE, 2012). São elas: Aluvial, de Terras Baixas, Submontana, Montana e Altomontana, cada qual com fisionomias distintas, originadas pelas variações ecotípicas associadas às faixas altimétricas e às condições geomorfológicas. As planícies litorâneas são compostas predominantemente pelas formações Aluvial e de Terras Baixas, enquanto os ambientes de relevo montanhoso abrigam as formações Submontana, Montana e Altomontana (IBGE, 2012).

A formação submontana envolve ecossistemas florestais distribuídas sobre as porções mais baixas das encostas da Serra do Mar e no vale do rio Ribeira, segundo o IBGE (2012) nas altitudes compreendidas entre 30 e 400 m. Em discordância, Roderjan *et al.* (2002), ao considerar o cenário ecológico, alterou esse limite para a cota de 600 m. De toda região fitoecológica desse domínio florestal, é nessa formação que se observa a maior diversidade florística, provavelmente pela soma de fatores ambientais como a profundidade dos solos, altas temperaturas e chuvas bem distribuídas (Roderjan *et al.*, 2002).

A formação Montana se projeta na porção intermediária das encostas da Serra do Mar, imediatamente adjacente a cota máxima do limite da formação submontanas, entre 400 e 1000 m (IBGE, 2012), ou ainda entre 600 e 1200 m (Roderjan *et al.*, 2002).

Independente da formação, no domínio da Floresta Ombrófila Densa é reconhecida a biodiversidade ímpar e o alto nível de endemismo das espécies (Blum, 2013). Considerando a importância das relações ecológicas estabelecidas entre fauna e vegetação nos ecossistemas da Serra do Mar, ainda são poucos os estudos que relatam a importância desse elo fauna-flora para a manutenção e conservação do equilíbrio ecológico na Floresta Atlântica.

Com relação à planície costeira do Estado do Paraná sabe-se que foi progressivamente modificada em decorrência dos movimentos de expansão e recuo do oceano, ocorridos nos últimos 500 anos (Bigarella, 2001). Com o recuo do mar, a nova área exposta foi sendo colonizada por uma diversidade de espécies vegetais, de início vegetação pioneira herbácea (Formações Pioneiras com Influência Marinha ou “Restingas”), seguida pela fixação de cordões arenosos, denominados de Depósitos Psamíticos (SEDEST, 2022).

Essa colonização vegetal propiciou uma adição de matéria orgânica nesses solos arenosos e conseqüentemente a modificação do substrato para “verdadeiros solos”, a saber, Neossolos Quartzarênicos (antigas Areias Quartzozas) e Espodossolos (antigos Podzóis) e, nos abaciados úmidos, Organossolos e Gleissolos, variando em função de seus conteúdos em areia e em argila (Roderjan *et al.*, 2002). A modificação no substrato proporcionou o estabelecimento de uma vegetação arbustiva e, na seqüência, arborea, com características mais específicas (Formações Pioneiras com influência Flúvio-lacustre, várzeas e caxetais), tendendo no decorrer da sucessão vegetal, as Florestas Ombrófilas Densas das Terras Baixas (Roderjan *et al.*, 2002).

A sucessão natural de Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas até a faixa da praia, que dista aproximadamente 600 m, foi totalmente suprimida e substituída por edificações, bem como pela rodovia que conecta os municípios de Matinhos e Pontal do Paraná.

2.2 A IMPORTÂNCIA DAS ABELHAS NATIVAS PARA A MATA ATLÂNTICA

As abelhas nativas sem ferrão (ASF), pertencentes à tribo Meliponini (Ordem Hymenoptera, Classe Insecta, Filo Arthropoda), apresentam ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais do planeta (Nogueira Neto, 1997). Estima-se que essa tribo compreenda aproximadamente 500 espécies distribuídas em cerca de 60 gêneros, sendo o continente americano responsável por abrigar cerca de 350 dessas espécies, das quais aproximadamente 250 ocorrem no Brasil (Villas-Bôas, 2018).

As ASF (Kerr, 1996; Nogueira Neto, 1997) são denominadas “sem ferrão” por possuírem um ferrão atrofiado, o que lhes conferiu um comportamento mais flexível para a domesticação pelos povos originários. Sem o ferrão, esses insetos desenvolveram outras formas de defesa, como a construção de ninhos com entrada

mais estreita, a presença de abelhas guardiãs na entrada das colmeias e a oclusão das aberturas dos ninhos com produtos resinosos (Monteiro; Ramalho, 2010; Nogueira Neto, 1997; Sforcin *et al.*, 2017).

Ao descrever o comportamento das ASF, Nogueira Neto (1997) relatou que, no ambiente natural, esses insetos comumente constroem seus ninhos em ocos de árvores, embora possam ser encontradas colonizando as cavidades do solo, alguns ninhos desativados de aves ou ainda em frestas de construções. A entrada no ninho, geralmente em forma de tubo é uma característica utilizada para identificar as espécies (Kerr, 1996; Nogueira Neto, 1997).

As abelhas nativas são fundamentais para a manutenção do equilíbrio ecológico, haja vista que estão diretamente ligadas à regeneração de espécies florestais, uma vez que, ao explorar os recursos florais de florestas tropicais úmidas (Sforcin *et al.*, 2017), esses insetos polinizam uma gama de espécies vegetais (Barbieri Junior; Franco, 2020; Nogueira Neto, 1997; Silva; Santos, 2023; Silva *et al.*, 2016). A polinização é reconhecida como um serviço ecossistêmico fundamental pela Convenção da Diversidade Biológica, em que o Brasil é signatário (Barbieri Junior; Franco, 2020).

Pesquisas realizadas por Gonçalves e Brandão (2008) evidenciaram a elevada riqueza e abundância de abelhas nativas no bioma Mata Atlântica, apontando esses insetos como os principais visitantes florais e agentes polinizadores, especialmente dos estratos superiores da vegetação (Monteiro; Ramalho, 2010). Características como a formação de colônias perenes, a elevada densidade populacional com altas taxas de renovação de biomassa e a capacidade de organização e armazenamento de recursos conferem às abelhas sem ferrão um papel ecológico significativo, sendo responsáveis por movimentar aproximadamente 3% da produção primária líquida em florestas tropicais (Monteiro; Ramalho, 2010).

O dossel da floresta atlântica é extremamente diverso e representado por grande número de plantas com florada em massa, isto é, uma quantidade grande de flores nas suas copas, de forma simultânea, o que evidencia que, no mesmo período de tempo, há uma quantidade elevada de recursos florais aos seus visitantes (Monteiro; Ramalho, 2010). Considerando que as Meliponini executam deslocamentos por voos mais curtos, bem como a alta diversidade floral típica dessa região, deduz-se a grande eficiência de forrageamento dessas abelhas, isto é, visitas aos recursos florais de menor tempo e maior número de viagens de coleta

no decorrer do dia (Monteiro; Ramalho, 2010; Sforcin *et al.*, 2017), fato esse que reforça a importância das ASF no quesito eficiência da polinização da vegetação.

Apesar de demonstrar a relação ecológica estreita e a significativa influência sobre o sucesso reprodutivo da floresta, as características e comportamentos peculiares das abelhas sem ferrão também as tornam mais vulneráveis à fragmentação da floresta, ainda que esse processo ocorra em nível local (Monteiro; Ramalho, 2010).

Apesar da reconhecida importância, as abelhas nativas entraram em declínio populacional acentuado nas últimas décadas, cujas causas são atribuídas principalmente a fatores antrópicos, isolados ou combinados, como desmatamentos e redução de habitats, mudanças climáticas, agentes patogênicos, uso indiscriminado de agroquímicos (Barbieri Junior; Franco, 2020; Beringer; Maciel; Tramontina, 2019; Kerr, 1996; Rosa *et al.*, 2016). Os dados demonstram que de cerca de 300 espécies de abelhas nativas na floresta atlântica, ao menos 100 correm algum risco de extinção (Kerr, 1996; Silva; Santos, 2023).

Uma das principais causas da redução da população mundial de abelhas é a alteração das paisagens naturais, como resultado dos desmatamentos e da fragmentação dos habitats. A diminuição das populações desses insetos afeta negativamente a diversidade genética das plantas, compromete a produção de alimentos e conseqüentemente a segurança alimentar e desencadeia efeitos em cascata que podem afetar o equilíbrio ecológico, a saúde humana, além dos impactos econômicos, que podem resultar na extinção de plantas e animais (Beringer; Maciel; Tramontina, 2019). O desaparecimento desses insetos seria catastrófico de diversas maneiras.

Segundo Kerr (1996), no bioma Mata Atlântica as ASF respondem por até 90% da polinização da flora nativa, enquanto Barbieri Júnior e Franco (2020) atribuem a esses organismos a polinização de cerca de 73% das espécies de cultivo a nível mundial, o que demonstra o quanto esses insetos são fundamentais tanto para a perpetuação da vegetação como também para a provisão de alimentos.

Diante disso, são urgentes a adoção de medidas para a manutenção e a reposição dessas populações de agentes polinizadores. Em seus estudos, Beringer *et al.* (2019) apresentam algumas estratégias para a conservação desses insetos, elencando a manutenção e recomposição de habitats naturais e a modificação no uso de agrotóxicos como as estratégias mais eficientes. Mais essencial é, no entanto, a

proteção de fragmentos florestais preservados, em especial os maiores e em estágios avançados de sucessão florestal, como o que ocorre na Serra do Mar paranaense, uma vez que a ocorrência dos meliponíneos é maior nesses habitats.

Outra medida que proporciona a conservação das abelhas nativas é a prática da meliponicultura, uma vez que o manejo racional das ASF envolve a manutenção dos ninhos e a multiplicação dos enxames (Barbieri Junior; Franco, 2020; Rosa *et al.*, 2019). No bioma Mata Atlântica, essa prática pode ser favorecida pelo aproveitamento da potencialidade do ambiente natural (Rosa *et al.*, 2019).

2.3 MELIPONICULTURA E O ECODESENVOLVIMENTO

O termo meliponicultura, embora já utilizado informalmente desde a década de 1970, com referências associadas tanto a Warwick Kerr (1996) quanto a Paulo Nogueira Neto (1997), passou a ser empregado de forma mais consistente em publicações científicas a partir da década de 1980. Trata-se de uma prática milenar com origem nos conhecimentos dos povos originários do continente sul-americano (Araújo; Andrade; Nogueira, 2023; Santos, 2023). Com exceção do território chileno, há registros em praticamente todos os países latino-americanos que evidenciam a relação dos povos indígenas com os produtos das abelhas sem ferrão, tanto por meio do extrativismo quanto por práticas incipientes de manejo e criação dessas abelhas (Villas-Bôas, 2018).

No Brasil, os registros sobre práticas tradicionais de criação de abelhas sem ferrão são escassos. Uma exceção relevante refere-se a práticas de semi-domesticação observadas entre os indígenas Kayapós, que realizavam a coleta do mel diretamente das árvores sem eliminar as colônias, o que possibilitava o aproveitamento recorrente do recurso ao longo do tempo (Villas-Bôas, 2018).

A meliponicultura configura-se como uma estratégia promissora para a integração da conservação da biodiversidade e do desenvolvimento econômico. Por meio da manutenção dos ninhos e da multiplicação dos enxames, essa prática favorece a preservação desses polinizadores, ao mesmo tempo em que possui potencial para geração de renda e fortalecimento socioeconômico dos territórios onde é desenvolvida (Barbieri Junior; Franco, 2020; Silva, 2025; Villas-Bôas, 2018).

Nas últimas décadas, essa prática tem conquistado cada vez mais espaço e interesse como prática de valorização do território, pois além do potencial para a

geração de renda, contribui para o fortalecimento da identidade local (Barbieri Junior; Franco, 2020; Gemim; Silva; Schaffrath, 2022; Veiga, 2023). Além disso, ao observar a multiplicidade dos usos, manejos e domínios (ambiental, social, cultural e econômico) envolvidos na meliponicultura, Barbieri e Franco (2020) concluíram que a atividade é uma das principais promotoras de sustentabilidade.

Considerada, por vezes, como rudimentar, a meliponicultura apresenta um grau de complexidade que, segundo Villas-Bôas (2018) justifica sua classificação em categorias distintas. Segundo o autor, não se trata de uma prática homogênea e singular, mas sim de um conjunto de abordagens diversas, determinadas pelos contextos socioculturais e pelos objetivos de seus praticantes. Entre as categorias destacam-se: a meliponicultura de base comunitária, tradicionalmente praticada por povos e comunidades locais, cuja transmissão de saberes ocorre entre gerações; a meliponicultura de empreendedores individuais, voltada à exploração econômica dos produtos diretos e indiretos das abelhas sem ferrão; e a meliponicultura científica, voltada à pesquisa e ao ensino. Villas-Bôas (2018) ressalta ainda que o Brasil se destaca como referência internacional em estudos voltados ao desenvolvimento de uma meliponicultura com enfoque conservacionista.

Ao defender a meliponicultura, Kerr (1996) elenca uma série de justificativas para incentivo da prática, dentre as quais, destacam-se a valorização da agricultura sustentável e valorização dos conhecimentos tradicionais, a utilização desses polinizadores como bioindicadores, por meio da avaliação do pólen coletado por esses insetos e o incentivo de pesquisas farmacológicas dos produtos e subprodutos das abelhas sem ferrão.

No quesito legal, existem alguns instrumentos normativos que regulamentam a atividade. Dentre esses, a Resolução n.º 496/2020 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (Brasil, 2020) regula o uso e o manejo sustentável das abelhas nativas sem ferrão na meliponicultura comercial e a Instrução Normativa do IBAMA, n.º 169/2008 (Brasil, 2008), que define os procedimentos para autorização, instalação e manejo de empreendimentos que utilizam fauna silvestre nativa.

No Estado do Paraná, a meliponicultura encontra espaço para expansão e incentivos de valorização advindos do próprio poder público nas diferentes esferas de atuação. Exemplo disso é o projeto estadual “Poliniza Paraná”, criado como um dos meios para se alcançar as metas definidas nos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU) (Paraná, 2024b). Com

isso, o Estado busca se tornar referência mundial em abelhas nativas e programas de conservação, além de preservar a população desses polinizadores nativos.

Em Morretes, o projeto intitulado “Morretes: Cidade do Pólen”, desenvolvido pela Prefeitura municipal, Governo do Estado e UFPR – Setor Litoral tem como objetivos a conservação da biodiversidade, o fortalecimento da rede de meliponicultores e a agricultura local por meio da geração de renda e a promoção do desenvolvimento sustentável desse território (Veiga, 2023).

Ademais, a meliponicultura no quesito socioeconômico pode ser entrelaçada aos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), em quatro especificamente: ODS 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável, ODS 3 – Saúde e Bem-Estar, ODS 12 – Consumo e Produção Responsáveis e ODS 15 – Vida Terrestre (ONU, 2015). O ODS 2 explicita a necessidade de políticas de combate à fome. Os números são alarmantes: em 2023, cerca de 733 milhões de pessoas no mundo estavam em situação de fome, o que corresponde a 1 em cada 11 pessoas. A África é a região com maior proporção de pessoas que enfrentam a fome, seguida da Ásia. No Brasil, em 2022, registrou-se a preocupante marca de 33,1 milhões de pessoas em situação de fome, conforme dados da Rede Brasileira de Pesquisa em Soberania e Segurança Alimentar (PENSSAN, 2022).

Quanto ao ODS 3, observa-se consonância com dois importantes desafios no campo da saúde pública: a ansiedade patológica e os transtornos depressivos. Essas condições afetam milhões de indivíduos em escala global, comprometendo a qualidade de vida, a produtividade e as relações sociais (Guedes *et al.*, 2022). No contexto da investigação de compostos que possam subsidiar o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, especialmente a partir de produtos naturais, os subprodutos da meliponicultura, em particular a própolis e a geoprópolis, têm demonstrado potencial para ampliar estratégias de cuidado mais acessíveis, seguras e possivelmente complementares às terapias convencionais, devido às propriedades biológicas já reconhecidas (Cavalcante *et al.*, 2025; Guedes *et al.*, 2022).

O ODS 12 propõe a adoção de padrões sustentáveis de produção e consumo, visando reduzir o desperdício, otimizar o uso de recursos naturais e minimizar os impactos ambientais, aspectos diretamente relacionados à meliponicultura, que se caracteriza por práticas produtivas de baixo impacto ambiental, integração com ecossistemas nativos e promoção da biodiversidade. Diante deste cenário, a integração das abelhas ao sistema produtivo agrícola representa grande potencial. As

abelhas contribuem para a agricultura sustentável aumentando a produtividade e a qualidade dos frutos, segurança alimentar e são responsáveis pela polinização de cerca de 70% das principais culturas agrícolas (Barbieri Junior; Franco, 2020; Kerr, 1996).

Por fim, o ODS 15 desafia quanto à preservação e manutenção da vida terrestre. De todas as consequências da degradação dos biomas e diminuição de habitats, a redução da biodiversidade é a que encabeça as maiores preocupações. Isso ocorre porque além de todo o valor ético e estético, o conjunto dos seres vivos é responsável por desempenhar serviços ecossistêmicos indispensáveis à manutenção da vida em todas as suas formas, a saber, serviços de provisão de alimentos, provisão de água, serviços de regulação climática, regulação de ciclagem de nutrientes, polinização, dentre tantos outros (Saccaro Junior, 2011).

Por esses pontos, ficam evidentes as características intrínsecas ao ecodesenvolvimento proposto por Sachs (1986), como o estilo de desenvolvimento que vai de encontro ao crescimento econômico desenfreado, antes prioriza soluções específicas para problemas locais e considera as dimensões ecológicas e as culturais, bem como as necessidades de curto e longo prazos. A biodiversidade local é uma vantagem natural para o ecodesenvolvimento, a qual, segundo Sachs (1986), deve ser potencializada tanto pelo conhecimento e valoração inerente a essa ampla riqueza biológica quanto pela organização social incluyente, no propósito de superar desigualdades e promover o desenvolvimento sustentável.

2.4 PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS NA MODULAÇÃO DA ANSIEDADE E DA CONVULSÃO

A origem da palavra própolis –*pró* (defesa) e –*polis* (cidade) remete a principal função que esse composto desempenha nas colmeias: a de proteção e vedação contra agentes invasores (Bankova, 2005; Jansen, 2015; Lustosa *et al.*, 2008; Sforcin *et al.*, 2017).

Este produto natural vem sendo utilizado há séculos com finalidades diversas (Jansen, 2015). No antigo Egito, os sacerdotes a utilizavam como medicamento natural e como parte dos cremes de embalsamar. Mais tarde, persas, romanos e incas também passaram a utilizar a própolis para tratar infecções. Durante a Idade Média, esse composto perdeu sua popularidade e o uso na medicina tradicional entrou em

declínio. No entanto, registros datados do século XII ainda mencionam formulações medicinais contendo a denominada "cola de abelha", as quais eram empregadas no tratamento de infecções orais e da faringe (Ferreira, 2017). Durante os séculos XVII e XX a própolis voltou a se popularizar na Europa, de tal forma que até os dias de hoje é muito procurada como medicamento natural (Bankova, 2005; Ferreira, 2017; Valcanaia *et al.*, 2022).

A própolis é uma mistura complexa formada por resinas vegetais coletadas pelas abelhas, provenientes de ramos, flores, pólen e outros constituintes vegetais (Bankova, 2005; Felício *et al.*, 2025), enquanto a geoprópolis envolve a mistura de resinas vegetais com barro, lodo e/ou partículas de areia (Bergamini, 2023; Sforcin *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2016). Além desses, esse composto ainda contém enzimas salivares das abelhas e cera em diversas concentrações (Pereira; Medeiros, 2022). Para as abelhas, a própolis é utilizada na vedação das frestas das colmeias, além de atuar como reguladora da temperatura interna e como barreira natural contra invasores (Felício *et al.*, 2025).

Quanto às espécies de abelhas, além das abelhas sem ferrão da tribo Meliponini, destacam-se as abelhas da tribo Apini, em especial as espécies do gênero *Apis*, amplamente reconhecidas pela presença de ferrão e por serem as principais produtoras de própolis, em especial da tonalidade verde (Sforcin *et al.*, 2017). Nessas abelhas, o comportamento defensivo está associado ao uso do ferrão como mecanismo de proteção da colônia (Sforcin *et al.*, 2017). A própolis verde tem como principal fonte botânica a planta *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo), amplamente distribuída nos estados de São Paulo e Minas Gerais, e constitui a própolis brasileira de maior demanda no mercado internacional, especialmente para a fabricação de medicamentos. As abelhas do gênero *Apis* produzem própolis, enquanto as da tribo Meliponini podem também produzir geoprópolis (Bankova, 2005; Lavinias *et al.*, 2019; Sforcin *et al.*, 2017).

Quanto à forma, a própolis é um material inicialmente duro e quebradiço, que se torna macio, maleável, resinoso e adesivo quando submetido ao aquecimento (Silveira, 2015). Usualmente, é classificada pela coloração dos seus extratos, que se diferem em tons que vão do amarelo-esverdeado, marrom avermelhado e negro, de tal maneira que são descritas 13 variações de cores para a própolis, com distintas características físico-químicas (Lustosa *et al.*, 2008; Pereira; Medeiros, 2022). No entanto, na região litorânea do Estado do Paraná, foi identificada uma variedade de

coloração azul dos extratos de geoprópolis produzidas por abelhas mandaçaia (*M. quadrifasciata*), tonalidade não identificada em outras regiões geográficas até o momento (Santos, 2023). O aprofundamento de estudos da geoprópolis azul, com definição de marcadores químicos específicos, diferenciação qualitativa e quantitativa poderão, no futuro, diferenciá-la como uma própolis específica (Brasil, 2011).

De composição fitoquímica complexa e variável, pesquisas conduzidas para elucidar a composição química da própolis de abelhas *Apis*, já identificaram mais de 300 compostos, classificados em açúcares, flavonoides, compostos fenólicos, ácidos e ésteres, terpenos, álcoois, ácidos graxos, aminoácidos, aldeídos, cetonas, chalconas e di-hidrochalconas e outros (Valcanaia *et al.*, 2022). Bankova (2005) destaca que na composição da própolis brasileira estão concentrações relevantes de ácido *p*-cumárico, prenilados e diterpenos.

No que diz respeito às própolis e geoprópolis das ASF, Souza (2019) destaca as classes de substâncias dos terpenoides, ácidos terpênicos, álcoois, ácidos alifáticos e seus ésteres, flavonoides, saponinas e ácidos aromáticos como os principais componentes. Lavinias *et al.* (2019) complementa ao acrescentar os fenilpropanóides, os flavonóides, os taninos, os terpenos, as saponinas, os alcalóides, os ácidos graxos, os açúcares e também os compostos fenólicos. Ferreira (2017) menciona que os compostos da própolis, embora seja considerada um produto de origem animal, envolvem em sua grande maioria constituintes vegetais, oriundos do metabolismo secundário de defesa das plantas, o que justifica a alta proporção de terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados.

No entanto, a concentração de cada componente da própolis é extremamente variável e dependente de fatores diversos, como a localização geográfica, a tipologia vegetal, as espécies de abelhas nativas envolvidas, dentre outros (Bankova, 2005; Lustosa *et al.*, 2008). No Brasil, a variação das propriedades biológicas e da composição química da própolis pode ser atribuída à elevada biodiversidade, em especial no bioma Mata Atlântica, o que torna a caracterização química da própolis uma tarefa complexa, marcada por inúmeras exceções e de difícil padronização (Bankova, 2005; Ferreira, 2017; Lavinias *et al.*, 2019).

Ao contrário das regiões mais frias do hemisfério norte, onde a produção de própolis pelas abelhas se limita às estações mais quentes e úmidas, no Brasil, a coleta desse produto ocorre durante todo o ano, apesar da ocorrência frequente de variações sazonais (Sforcin *et al.*, 2017). Quanto às variações na composição da própolis

produzidas nas diferentes estações do ano, Sforcin *et al.* (2017) observaram que não há diferença significativa e que estas são predominantemente quantitativas, mantendo-se, em todas as estações, concentrações relevantes dos compostos biologicamente ativos.

A própolis e suas variações têm despertado o interesse de pesquisadores e meliponicultores, uma vez que já foram identificadas e descritas uma gama de efeitos biológicos exercidos por esse composto (Cabral *et al.*, 2009; Santos, 2023). A própolis brasileira apresenta uma abundância de propriedades biológicas como as anti-inflamatórias, antioxidantes, antibióticas, antifúngicas, citotóxicas e outras mais (Cardoso, 2014; Ferreira, 2017; Pereira; Medeiros, 2022). Muitos estudos atribuem esses efeitos biológicos às elevadas concentrações de compostos fenólicos, em especial aos flavonoides (Ferreira, 2017; Oliveira *et al.*, 2021; Reis *et al.*, 2014).

Alguns fitoquímicos, como os flavonóides e as cetonas, apresentam notável atividade antioxidante e citoprotetora, isto é, são capazes de neutralizar radicais livres, que, ao reagir com o oxigênio, podem causar danos celulares. Segundo Ferreira (2017), os efeitos antioxidantes resultam em um amplo espectro de atividades biológicas nas células humanas, como a proteção de lipídeos e outros compostos como a vitamina C, evitando que sejam oxidadas ou destruídas.

Além disso, há fortes evidências de uma relação direta entre os efeitos antioxidantes e as atividades ansiolítica e antidepressiva. Essa associação pode ser justificada pelo fato de que, além de interagir com receptores específicos do sistema nervoso central, compostos com ação ansiolítica também são capazes de reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio, como o óxido nítrico (NO), e de inibir a peroxidação lipídica no parênquima cerebral (Reis *et al.*, 2014; Silveira, 2015).

Corroborando essa relação, Reis *et al.* (2014) demonstraram que o extrato oleoso de própolis (OEP), administrado em doses entre 10 e 50 mg/kg, produziu efeitos ansiolíticos no sistema nervoso central de ratos submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado, método amplamente utilizado para avaliar comportamentos relacionados à ansiedade. De forma complementar, Silveira (2015) ao investigar efeitos neurocomportamentais e marcadores de estresse oxidativo em ratos, confirmou o efeito ansiolítico e antidepressivo do extrato etanólico de própolis amarela.

No que se refere às convulsões, Oliveira *et al.* (2021) evidenciaram que o extrato hidroalcoólico de própolis vermelha (EHPV) exerce efeito neuroprotetor em

ratos submetidos a crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ). Os autores observaram que o tratamento com EHPV reduziu a progressão dos estágios convulsivos, indicando seu potencial anticonvulsivante e neuroprotetor.

É importante considerar, no âmbito dos estudos em neurociência, que o modelo de experimentação animal *Zebrafish* tem se mostrado altamente promissor e confiável, especialmente em investigações que envolvem sistemas biológicos complexos, como os mecanismos de neuroregulação associados à ansiedade e às convulsões. Exemplos disso incluem o Diazepam, um agonista de receptores benzodiazepínicos, e a fluoxetina, um inibidor seletivo da recaptação de serotonina (SSRI), ambos capazes de provocar respostas ansiolíticas claras em peixes-zebra adultos (Ferreira, 2022).

Embora ainda escassos, os estudos dos efeitos da própolis e geoprópolis no sistema nervoso central, utilizando como modelo vivo o *zebrafish*, podem ser de grande relevância ao abordarem uma das principais problemáticas da saúde pública: os transtornos de ansiedade, atualmente classificados entre as dez maiores causas de incapacitação global. Nos Estados Unidos, estima-se que a prevalência desses transtornos atinja aproximadamente 18% da população, o que representa um impacto econômico expressivo, com custos anuais superiores a 42,3 bilhões de dólares (Guedes *et al.*, 2022). No contexto europeu, mais de 60 milhões de pessoas foram afetadas por algum tipo de transtorno de ansiedade em apenas um ano. Notadamente, o Brasil ocupa a primeira posição mundial em prevalência desses transtornos, além de figurar entre os cinco países com maiores índices de depressão (Guedes *et al.*, 2022).

Dentre os transtornos psiquiátricos, a ansiedade e a depressão apresentam altas taxas de prevalência, e o tratamento convencional permanece o mesmo há pelo menos cinco décadas, baseando-se predominantemente pelo uso de benzodiazepínicos (Guedes *et al.*, 2022) e de inibidores seletivos da recaptação da serotonina. Embora esses fármacos demonstrem eficácia comprovada na atenuação dos sintomas relacionados às crises de ansiedade, seu uso contínuo está frequentemente associado a uma ampla variedade de efeitos adversos (Benneh *et al.*, 2017; Ferreira *et al.*, 2020; Guedes *et al.*, 2022).

É reconhecido que tanto a própolis como a geoprópolis têm um potencial farmacológico e que a condução e o aprofundamento dos estudos regionais, como da própolis azul produzida no litoral do Estado do Paraná, poderão contribuir com a

agregação de valor a esse produto enquanto fármaco de origem natural, bem como fomentar a sua produção e a expansão da meliponicultura nesse território (Santos, 2023). Considerando que os efeitos biológicos da propólis dependem da sua composição química, a qual, por sua vez depende de variáveis, resta comprovado o quanto é essencial que estudos e pesquisas sejam conduzidos para cada região geográfica, de maneira a aprofundar o conhecimento da função de qual fitoquímico da própolis é responsável por cada um dos seus efeitos biológicos (Cabral *et al.*, 2009; Cardoso, 2014; Valcanaia *et al.*, 2022).

2.5 ALTERNATIVAS NATURAIS PARA A TRATAMENTO DE ANSIEDADE E CONVULSÃO

Assim como o medo, a ansiedade constitui uma resposta emocional natural; contudo, enquanto o primeiro é normalmente desencadeado por estímulos ou ameaças bem definidas, a ansiedade manifesta-se como uma apreensão generalizada, cuja origem frequentemente não pode ser claramente identificada (Silveira, 2015).

Segundo Leonardo e Hen (2008) a definição de ansiedade é complexa, porém abrange um estado de prontidão do organismo por mobilizar uma resposta a uma potencial ameaça. Os mesmos autores classificam, ainda, a ansiedade não patológica em duas categorias: uma situacional, que já envolve uma primeira resposta adaptativa aguda e outra denominada de ansiedade traço, que indica o nível basal de reatividade que conduzem a um comportamento ansioso.

Diferente da ansiedade não patológica, os transtornos de ansiedade comprometem significativamente o desempenho do indivíduo em suas atividades cotidianas (Leonardo; Hen, 2008; Silveira, 2015). Trata-se de um distúrbio comportamental de natureza multidimensional, que tem sido amplamente investigado no campo da neurociência, com o objetivo de elucidar os mecanismos pelos quais os circuitos neurais regulam esse tipo de resposta emocional (Guedes *et al.*, 2022).

De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico da Associação Americana de Psiquiatria os transtornos de ansiedade são sistematicamente classificados em seis categorias clínicas, que envolvem: o transtorno de ansiedade generalizada (TAG), a fobia social, a fobia específica, o transtorno do pânico, o transtorno de

estresse pós-traumático (TEPT) e o transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) (Leonardo; Hen, 2008).

As principais estruturas do Sistema Nervoso Central envolvidas nos mecanismos relacionados à ansiedade incluem a amígdala, o hipocampo e o córtex pré-frontal. A nível molecular, destacam-se o ácido gama-aminobutírico (GABA), considerado o principal neurotransmissor inibitório do SNC, e os receptores de membrana do tipo A de ácido γ -aminobutírico (GABA_A), que atuam diretamente na ansiedade patológica (Ferreira, 2022; Ferreira *et al.*, 2020; Guedes *et al.*, 2022; Silveira, 2015). O GABA é sintetizado a partir do aminoácido precursor L-glutamato, pela ação da enzima glutamato descarboxilase (GAD), encontrada somente em neurônios que sintetizam este neurotransmissor no cérebro (Ferreira, 2022; Oliveira, 2020; Silveira, 2015).

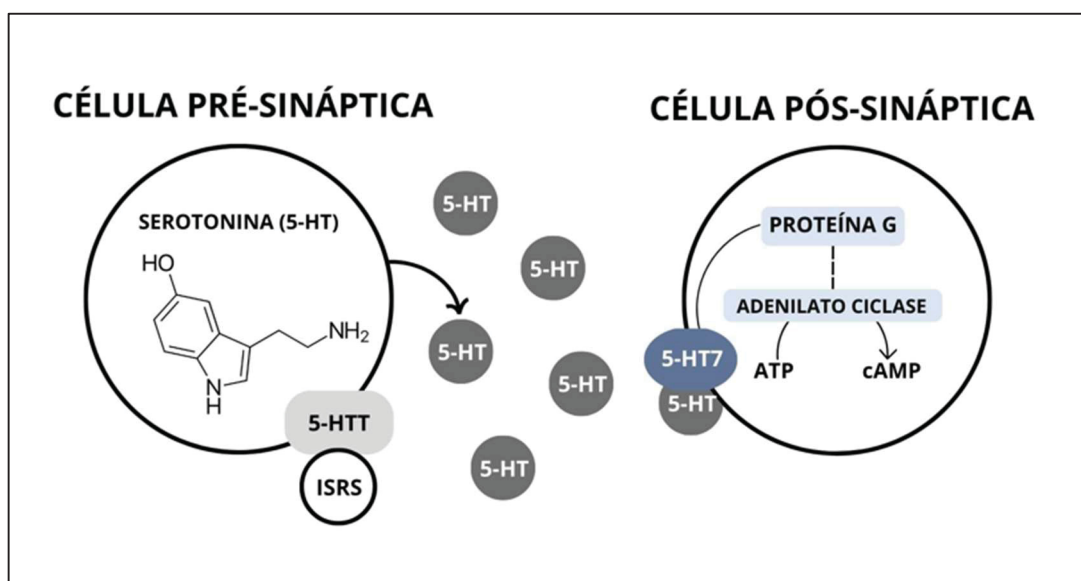
Outro sistema de neuroregulação envolvido na ansiedade é o serotoninérgico. A serotonina, também denominada de 5-HT (5-hidroxitriptamina) é um neurotransmissor derivado do aminoácido triptofano, com atuação direta nos receptores de membrana do sistema nervoso central e do sistema nervoso periférico (SNP) (Lima *et al.*, 2020), os quais por sua vez se agrupam em sete famílias (5-HT1 a 5-HT7). Os receptores da família 5-HT1A estão envolvidos na regulação da ansiedade, enquanto a ativação dos receptores do subtipo 5-HT2A dispara efeitos ansiogênicos (Cavalcante *et al.*, 2025).

O tratamento convencional para a ansiedade patológica é feito com o uso de medicamentos benzodiazepínicos, dentre os quais, destaca-se o Diazepam, bem como pelos ISRS, com destaque para a Fluoxetina, ambos eficazes no tratamento de crises de ansiedade ao atuar no controle da excitabilidade neuronal. Contudo, o uso frequente e contínuo desses medicamentos pode acarretar efeitos adversos (Benneh *et al.*, 2017; Ferreira, 2022; Silveira, 2015).

Segundo Ferreira (2022) os medicamentos que atuam sobre receptores específicos de membrana podem ser classificados, de modo geral, em agonistas e antagonistas. Os primeiros possuem a capacidade de se ligar a receptores e ativá-los, promovendo uma resposta biológica que pode intensificar ou reduzir a atividade celular, enquanto os últimos exercem sua ação bloqueando a ligação de agonistas endógenos, como neurotransmissores aos seus receptores, o que resulta na inibição ou atenuação da resposta celular normalmente desencadeada. O tratamento convencional que resulta no estado ansiolítico envolve fármacos agonistas dos

receptores GABA e, pelos inibidores da recaptação da serotonina que atuam no bloqueio da recaptação de serotonina nas células pré-sinápticas pelo transportador de serotonina, o que importa no aumento significativo dos níveis de serotonina extracelular nas fendas sinápticas, como pode ser observado na Figura 3 (Ferreira, 2022; Ferreira *et al.*, 2020; Guedes *et al.*, 2022; Silveira, 2015).

FIGURA 3 – MECANISMO DE ATIVIDADE SEROTONINÉRGICA NAS CÉLULAS PRÉ-SINÁPTICAS E PÓS-SINÁPTICAS



FONTE: Adaptado de Silveira (2015).

Além da neuroregulação da ansiedade, o GABA e os receptores de membrana do tipo A estão envolvidos em funções neurofisiológicas que condicionam a esquizofrenia e a epilepsia. Os receptores GABA_A estão associados ainda a processos cognitivos, abrangendo aprendizagem, memória e modulação da dor (Silveira, 2015). O GABA é fundamental na regulação das crises epiléticas convulsivas e não convulsivas, de tal forma que medicamentos que aumentam os níveis de GABA são eficientes na epilepsia convulsiva (Ferreira, 2022).

Outra preocupação no que tange a ansiedade patológica é alta incidência em pacientes epiléticos, de até 25% dos pacientes, o que evidencia a correlação entre a gravidade das crises epiléticas e a presença dos transtornos de ansiedade (Ferreira, 2022; Guedes *et al.*, 2022; Salpekar *et al.*, 2020).

A epilepsia, tal qual ocorre com a ansiedade patológica, configura-se como uma das disfunções neurológicas mais prevalentes que acometem o Sistema Nervoso

Central (SNC), sendo definida pela ocorrência recorrente e espontânea de crises epiléticas. Essas crises podem manifestar-se de maneira focal, envolvendo regiões específicas do SNC, ou de forma generalizada, comprometendo ambos os hemisférios cerebrais (Oliveira, 2020). Sabe-se que as vias fisiológicas que envolvem o estresse e a ansiedade incluem o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), o que contribui para a compreensão de como o estresse pode interferir no controle das crises convulsivas (Salpekar *et al.*, 2020).

Ferreira (2022) menciona que os estudos classificam a epilepsia em três categorias, a depender da classe dos sintomas, a saber: A primeira é idiopática e refere-se à crise que não resulta em lesão cerebral, possivelmente de causa genética ou com início na infância; na segunda, classificada como adquirida, as crises decorrem de uma ou mais lesão estrutural no cérebro; a última, criptogênica é a epilepsia sintomática, contudo, sem etiologia estabelecida. Por sua vez, das crises epiléticas, as mais preocupantes são as generalizadas que atingem globalmente o SNC, e são responsáveis por lesões nos dois hemisférios cerebrais (Ferreira, 2022; Oliveira, 2020).

Nos transtornos de ansiedade, assim como nos distúrbios caracterizados por desequilíbrios entre as redes neuronais excitatórias e inibitórias que culminam em crises convulsivas, o tratamento convencional e de uso contínuo pode gerar pacientes refratários (Benneh *et al.*, 2017). No que tange ao tratamento prolongado com fármacos benzodiazepínicos, largamente utilizados no controle da ansiedade patológica, é relatada a ocorrência de efeitos colaterais crônicos, dentre os quais, Ferreira (2022) menciona a amnésia, alterações cognitivas, estados de confusão e ataxia. Quanto ao uso contínuo de fármacos antiepiléticos os efeitos adversos podem ser ainda mais graves, como a depressão, comportamento aberrante, irritabilidade, a hostilidade e até mesmo a agressividade (Ferreira, 2022).

Ainda no que diz respeito ao tratamento de crises convulsivas de pacientes epiléticos, a nível mundial, estima-se que para até 40% dos pacientes diagnosticados, as convulsões não podem ser controladas adequadamente com medicamentos, o que demonstra a alta incidência de resistência a medicamentos convencionais (Benneh *et al.*, 2017; Ferreira, 2022; Oliveira, 2020).

O pentilenotetrazol (PTZ) é um quimioconvulsivo que ativa o receptor GABA, induzindo *in vivo* efeitos semelhantes a crises epiléticas (Ferreira, 2022). Assim, um medicamento para ser considerado eficiente no combate de crises convulsivas deve

possuir como característica principal a resistência ao PTZ e ao eletrochoque máximo (Ferreira, 2022).

Diante da crescente e significativa parcela de pacientes que se tornaram resistentes aos tratamentos convencionais, é imprescindível a busca e a investigação de fármacos de origem natural para os transtornos de ansiedade e de epilepsia. Substâncias como a própolis e a geoprópolis demonstram potencial farmacológico promissor, podendo representar alternativa capaz de minimizar os efeitos adversos decorrentes do uso contínuo e prolongado de medicamentos tradicionais (Ferreira, 2017; Reis *et al.*, 2014).

2.6 O ZEBRAFISH COMO MODELO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

O *zebrafish* (*Danio rerio*), conhecido também por paulistinha, é uma espécie de peixe originária do sul da Ásia, com ampla ocorrência em diferentes regiões do Sudeste Asiático. Pertencente à família Cyprinidae, essa espécie tem sido empregada como peixe ornamental e, desde a década de 1960, se consolidou como modelo experimental vivo em pesquisas biológicas com vertebrados (Cavalcante *et al.*, 2025; Guedes *et al.*, 2022; Matos, 2022). A Figura 4 ilustra o *zebrafish* adulto.

FIGURA 4 – ZEBRAFISH ADULTO



FONTE: Ferreira (2022).

Em nível mundial, essa espécie tem sido amplamente empregada como peixe ornamental e, desde a década de 1960, vem se consolidando como modelo experimental em pesquisas com vertebrados (Cavalcante *et al.*, 2025; Guedes *et al.*, 2022; Matos, 2022).

Ao longo das últimas décadas, o *Danio rerio* se firmou como um modelo vivo experimental de grande relevância em diversas áreas da biologia, incluindo a biologia do desenvolvimento, a farmacologia, a toxicologia e a ecotoxicologia (Matos, 2022). Essa ampla utilização decorre, principalmente, da facilidade prática de criação e manejo, da expressiva homologia genética com a espécie humana e da característica translúcida de seus embriões, o que possibilita a visualização direta de processos biológicos em tempo real, além da comparação do comportamento observado em outros organismos (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira, 2022; Matos, 2022; Mendonça, 2024).

No que se refere à similaridade genética entre o *zebrafish* e os seres humanos, estima-se que aproximadamente 70% dos genes humanos possuam ao menos um ortólogo no genoma dessa espécie. Os ortólogos correspondem a genes presentes em diferentes organismos que derivam de um mesmo ancestral comum. Entre os cerca de 19 mil genes analisados no genoma humano, foram identificados ortólogos em aproximadamente onze espécies de vertebrados, incluindo o peixe-zebra (Mendonça, 2024).

Especificamente nos estudos farmacológicos, o *zebrafish* tem sido empregado para a avaliação dos comportamentos frente à administração de drogas ou fármacos utilizados no tratamento de diferentes doenças (Cavalcante *et al.*, 2025; Mendonça, 2024). A utilização desse modelo vivo para avaliação dos efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes é confiável, uma vez que a espécie apresenta sistema nervoso central complexo e bem desenvolvido, com semelhanças anatômicas e fisiológicas ao humano, incluindo a presença de receptores e neurotransmissores análogos (Cavalcante *et al.*, 2025).

Na neurociência, o modelo *zebrafish* contribuiu com a elucidação de diversas doenças que acometem o SNC, uma vez que permitiu uma melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos envolvidos nesses sistemas (Ferreira, 2022).

No que se refere ao sistema serotoninérgico, contudo, Cavalcante *et al.* (2025) alertam que, tal qual ocorre entre o sistema serotoninérgico de ratos e humanos, que são mamíferos, também há diferenças significativas entre humanos e peixes, que são filogeneticamente mais distantes. Mendonça (2024) aponta que as diferenças estão principalmente associadas à localização e ao número de núcleos de neurônios serotoninérgicos, bem como à expressão de genes envolvidos nas proteínas transportadoras de serotonina (SERT) e de receptores serotoninérgicos. Conclui,

porém, que apesar das diferenças, as respostas comportamentais de drogas sobre o sistema serotoninérgico no peixe-zebra são análogas às ações descritas em mamíferos (Cavalcante *et al.*, 2025; Guedes *et al.*, 2022; Mendonça, 2024), o que demonstra a viabilidade e a confiabilidade do modelo vivo para pesquisas experimentais.

3 ASPECTOS METODOLÓGICOS

3.1 CLASSIFICAÇÃO DO TIPO DE PESQUISA

Considerando as formas de classificação da pesquisa científica propostas por Prodanov e Freitas (2013), esse estudo se enquadrado como de natureza aplicada, explicativo-experimental, de estudo bibliográfico e experimental em laboratório, de abordagem qualitativa e quantitativa.

A natureza aplicada fundamentou-se no objetivo geral que envolveu avaliar sistematicamente a própolis e a geoprópolis produzidas por abelhas nativas sem ferrão (mandançaia, jataí e manduri), provenientes da meliponicultura praticada em duas distintas regiões do Estado do Paraná, quanto à toxicidade aguda, ao efeito ansiolítico e ao respectivo mecanismo de ação, bem como ao efeito anticonvulsivante em modelo *in vivo* zebrafish. Assim, a pesquisa objetivou gerar conhecimentos para aplicação prática, além de integrar verdades e interesses de âmbito local.

Do ponto de vista dos objetivos, a presente pesquisa caracterizou-se como explicativa, uma vez que buscou identificar os fatores responsáveis por um fenômeno previamente determinado, isto é, avaliou se a própolis e a geoprópolis de abelhas nativas possuem determinados efeitos biológicos. Tal enquadramento justifica-se pelo objetivo de aprofundar o conhecimento da realidade, elucidando as razões subjacentes ao fenômeno investigado. Para alcançar esse objetivo, adotou-se, do ponto de vista metodológico, o método experimental, em razão da necessidade de manipular e controlar variáveis, a fim de identificar qual delas é responsável por determinar a causa do fenômeno em estudo.

Quanto aos procedimentos técnicos que dizem respeito a forma pela qual foram obtidos os dados necessários para o desenvolvimento da pesquisa, o delineamento dessa pesquisa envolveu o estudo bibliográfico como referencial teórico e a pesquisa experimental em laboratório, o que ensejou a manipulação de variáveis e a comparação com um grupo de controle.

Por fim, do ponto de vista da forma de abordagem do problema esse trabalho tem majoritariamente abordagem quantitativa, dada a necessidade de técnicas estatísticas (análise de variância) para tratamento dos dados e resultados. No entanto, essa pesquisa também tem abordagem qualitativa, uma vez que os meliponicultores participaram ativamente no desenvolvimento dessa pesquisa, não apenas fornecendo

o material (própolis/geoprópolis), mas também como sujeitos interessados nos resultados do presente estudo.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE PESQUISA, POPULAÇÃO E AMOSTRA

A Floresta Ombrófila Mista (FOM), conhecida, como “pinheiral” ou “mata-de-araucária”, principia no Primeiro Planalto Paranaense, a oeste da Serra do Mar, e se estende pelos Segundo e Terceiro Planaltos (Reginato; Goldenberg, 2007). Essa fitofisionomia encontra-se entre 800 e 1200 m, podendo ocorrer acima desses limites (Roderjan *et al.*, 2002).

É nessa formação que se insere a região de Mandirituba, localizada na microrregião de Curitiba, onde predominam as formações Aluvial, Montana e áreas de campos naturais. Além da presença marcante de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, a região abriga outras espécies nativas de expressiva relevância ecológica e econômica, como a imbuia (*Ocotea porosa*) e a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (Mandirituba, 2020).

A região costeira do Estado do Paraná é composta pelas tipografias de relevo da Serra do Mar e da Planície Litorânea, as quais definem singularidades fisiográficas (Torres; Tiepolo, 2022). Adjacente a Serra do Mar, na região oeste, principia do primeiro planalto a Mata das Araucárias, percorrendo também o segundo e o terceiro planalto (Reginato; Goldenberg, 2007). É possível delinear distintas formações vegetacionais, caracterizadas por composições florísticas, estruturas e fisionomias marcadamente diferenciadas, distribuídas ao longo do litoral e da encosta atlântica (Roderjan *et al.*, 2002).

Dentro da Floresta Ombrófila Densa existem subdivisões de formações, organizadas conforme uma hierarquia topográfica (IBGE, 2012). São elas: Aluvial, de Terras Baixas, Submontana, Montana e Altomontana, cada qual com fisionomias distintas, originadas pelas variações ecotípicas associadas às faixas altimétricas e às condições geomorfológicas.

No município de Paranaguá predominam as planícies litorâneas, compostas principalmente pelas formações Aluvial e de Terras Baixas, enquanto as áreas de relevo mais elevado apresentam as formações Submontana, Montana e Altomontana (IBGE, 2012). Em Morretes, encontram-se as formações Montana e Submontana, diferenciadas entre si por fatores ambientais, como clima, relevo e tipo de solo (Blum,

2013). A formação Submontana engloba ecossistemas florestais situados nas porções mais baixas das encostas da Serra do Mar e no vale do rio Ribeira, ocorrendo em altitudes entre 30 e 400 m (IBGE, 2012). Dentro desse domínio fitoecológico, é nessa formação que se registra a maior diversidade florística, possivelmente resultante da combinação de fatores ambientais, como solos profundos, temperaturas elevadas e precipitação bem distribuída ao longo do ano (Roderjan *et al.*, 2002).

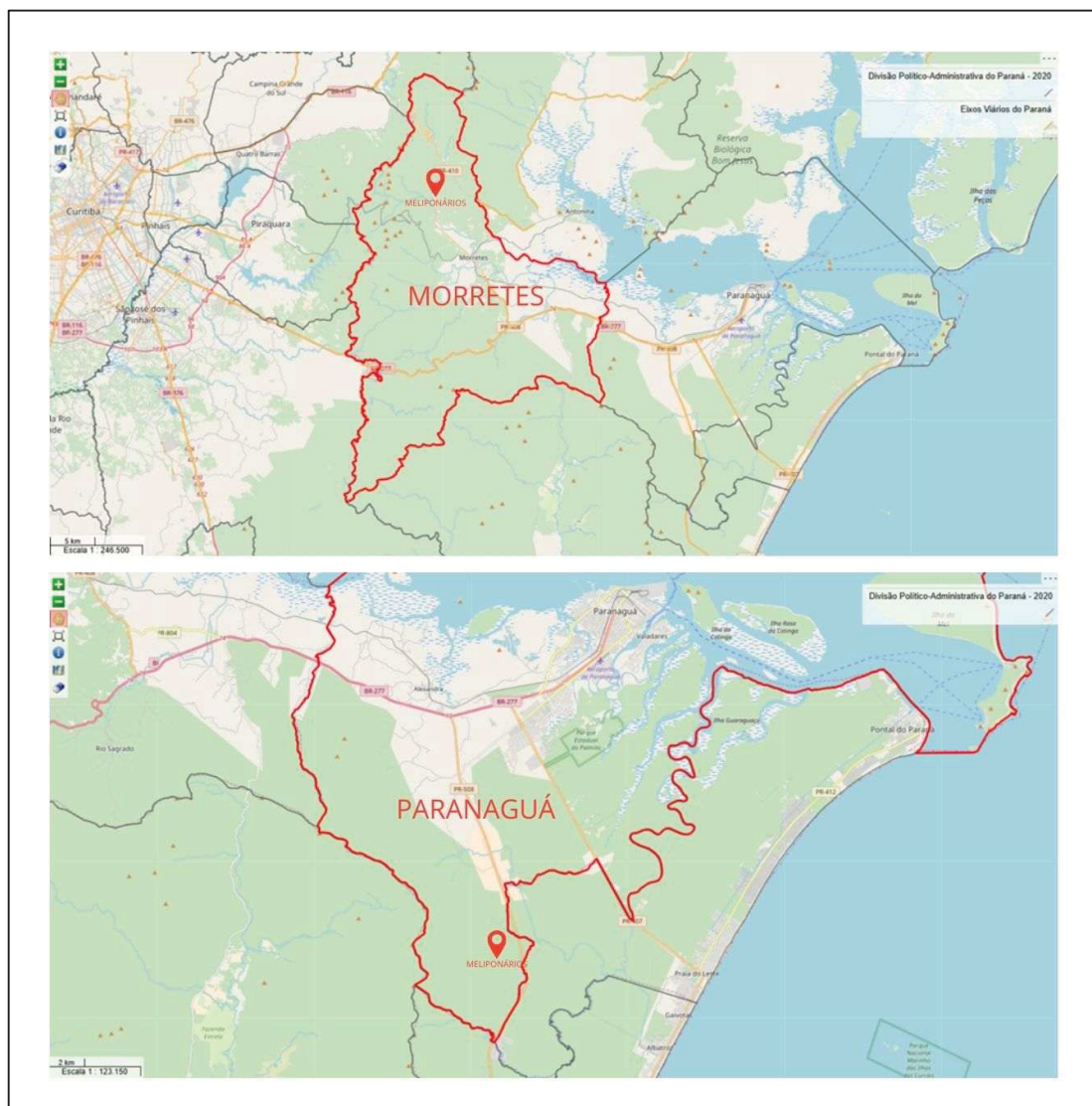
Considerando as particularidades da região litorânea, como relevo, cobertura vegetal e condições climáticas, foram adotadas estratégias diferenciadas para a seleção dos meliponários para as coletas de própolis/geoprópolis. No município de Morretes, por exemplo, os meliponários selecionados localizam-se predominantemente em áreas rurais, que apresentam ampla variação altimétrica, favorecendo a formação de um gradiente de vegetação e, conseqüentemente, uma maior disponibilidade e diversidade de recursos florais para as abelhas nativas. Ademais, Morretes destaca-se pelo reconhecimento da meliponicultura como patrimônio territorial, evidenciando sua relevância cultural, econômica e socioambiental na região. Esse reconhecimento reforça a atividade não apenas como uma prática tradicional de manejo sustentável, mas também como um elemento de valorização da identidade e dos saberes das comunidades tradicionais (Veiga, 2023).

De maneira semelhante, a seleção dos meliponários para a coleta de geoprópolis em Paranaguá priorizou áreas rurais com vegetação preservada em seu entorno. Foram escolhidos meliponários na Colônia Pereira, próximos à Rodovia PR-508 (Alexandra – Matinhos), devido à proximidade com o Parque Nacional Saint-Hilaire Lange. Essa localização garante elevada disponibilidade de recursos florais para as abelhas e possibilita a comparação entre os diferentes tipos de geoprópolis e as respectivas formações florestais de origem, como Montana e Densa de Terras Baixas.

As amostras foram obtidas a partir de dois núcleos de meliponicultores localizados em diferentes regiões do estado do Paraná, sendo posteriormente processadas em duas etapas distintas.

Na primeira etapa, foram selecionadas e analisadas as amostras de própolis e geoprópolis produzidas pelas espécies de abelhas sem ferrão mandaçaia, jataí e manduri. Essas amostras foram cedidas por meliponicultores vinculados à Amamel (Associação de Meliponicultores de Mandirituba - PR), por meio de uma parceria de colaboração firmada entre a Associação e o Setor Litoral (UFPR).

FIGURA 6 – LIMITES DOS MUNICÍPIOS DO LITORAL E RESPECTIVAS INDICAÇÕES DOS LOCAIS DE COLETA



FONTE: GeoPR (Paraná, 2024).

TABELA 1 – DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA MICRORREGIÃO DE CURITIBA

Município de coleta	Período de Coleta	Material	Espécie de abelha	ID
Mandirituba	Out/2024	geoprópolis	mandaçaia	1A0924R
Campo Magro	Out/2024	própolis	jataí	2B1024
São José dos Pinhais	Out/2024	própolis	manduri	2C1024
Mandirituba	Abril/2025	geoprópolis	mandaçaia	1A0924R
Campo Magro	Abril/2025	própolis	jataí	2B1024
São José dos Pinhais	Abril/2025	própolis	manduri	2C1024

FONTE: A autora (2025)

TABELA 2 – DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS COLETADAS NA REGIÃO DO LITORAL

Município de coleta	Período de Coleta	Material	Espécie de abelha	ID
Morretes	Janeiro/25	geoprópolis	mandaçaia	7A1224EL
Paranaguá	Janeiro/25	geoprópolis	mandaçaia	6A1224RR
Morretes	Abril/25	geoprópolis	mandaçaia	7A1224EL
Paranaguá	Abril/25	geoprópolis	mandaçaia	6A1224RR

FONTE: A autora (2025).

Os municípios de Mandirituba, Campo Magro e São José dos Pinhais, segundo a última classificação proposta pelo IBGE (2022) são enquadrados como “região intermediária de Curitiba” e “região imediata de Curitiba”. A mesma classificação declara, segundo a mesorregião, como “região Metropolitana de Curitiba” e, segundo a microrregião, como “microrregião de Curitiba”. A seleção dos meliponários nos três municípios envolveu a localização prioritária em áreas rurais, com características naturais de entorno, em especial de vegetação preservada e próxima aos meliponários.

Os municípios de Morretes e Paranaguá estão situados na região costeira do Estado do Paraná e, segundo a última classificação proposta pelo IBGE (2022) são, ambos, classificados como “região Intermediária de Curitiba” e “região Imediata de Paranaguá”. Segundo a mesorregião, os dois municípios integram a “região Metropolitana de Curitiba” e a “microrregião de Paranaguá”. Nesse estudo, essa região foi identificada como região do litoral (RL).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1 Coleta de Própolis/Geoprópolis e acondicionamento

De cada caixa racional, os meliponicultores voluntários separaram três amostras (n=3) (Santos, 2023). Própolis e geoprópolis foram obtidas pela raspagem das paredes e quadros das caixas das colmeias e inspecionadas a fim de remover impurezas. Na Figura 7 é possível observar uma caixa racional e a tampa removida, previamente ao raspamento do quadro.

Em seguida, a própolis/geoprópolis *in natura* foi pesada, acondicionada em embalagens plásticas e congelada no laboratório de Química e Biologia do Setor Litoral da UFPR até o momento das análises.

As embalagens utilizadas no acondicionamento do material bruto eram de cor escura para proteção da luz e conservação das características químicas das amostras.

FIGURA 7 – CAIXA RACIONAL E A REMOÇÃO DA TAMPA PARA RASPAGEM DA PRÓPOLIS E GEOPRÓPOLIS



FONTE: A autora (2025).

4.1.2 Preparação dos extratos de Própolis/Geopropolis

Para o preparo dos extratos de própolis e geopropolis foi adaptada a metodologia descrita por Silva *et al.* (2012) que envolve a pesagem *in natura* das amostras, seguida da trituração de uma massa de própolis/geopropolis (g).

Foram pesadas 50 g de amostra bruta de própolis ou geopropolis, para o preparo dos respectivos extratos etanólicos. Após a pesagem, o material foi macerado manualmente, a fim de promover a fragmentação e homogeneização da amostra. Esse procedimento foi essencial, pois permitiu um aumento da superfície de contato da própolis com o solvente, otimizando a dissolução em etanol absoluto (99,8%), num volume de 250 ml, sob condições de temperatura ambiente. Devido a dificuldade de maceração da geopropolis produzida pela espécie mandaçaia, o processo foi facilitado com a adição de um volume de 50 ml de etanol absoluto.

Após o processo de maceração, o material foi submetido à nova pesagem, com a finalidade de corrigir e confirmar a massa obtida. No caso das amostras de geoprópolis, previamente à etapa de pesagem, procedeu-se à evaporação completa do volume de 50 ml de etanol adicionado durante a maceração. Somente após a secagem integral do solvente, as amostras foram novamente pesadas, a fim de assegurar a determinação precisa da massa seca.

Para o preparo da solução de concentração 1:5 (50 g de própolis/geoprópolis e 250 ml de etanol absoluto), a massa seca de 50 g própolis/geoprópolis foi transferida para um frasco âmbar com tampa e, na sequência, sob agitação manual moderada e em temperatura ambiente, foi inserido o volume de 250 ml de etanol absoluto. As amostras foram agitadas manualmente, identificadas e transferidas para um local escuro a temperatura ambiente, por um período de 10 dias, procedendo-se à agitação manual a cada 2 dias.

As amostras foram filtradas e o volume resultante submetido à secagem em rotador evaporativo, obtendo-se um material sólido que foi novamente pesado. Esse material corresponde ao extrato etanólico de própolis (EEP). O “geo” retido no filtro foi colocado em placa de Petri de vidro e levado à estufa de secagem por 60 minutos; em seguida, foi novamente pesado para confirmação do rendimento da extração.

Para o cálculo do rendimento da extração foi feita uma diferença entre a massa do filtrado com a massa do não filtrado, metodologia adaptada de Basílio (2018).

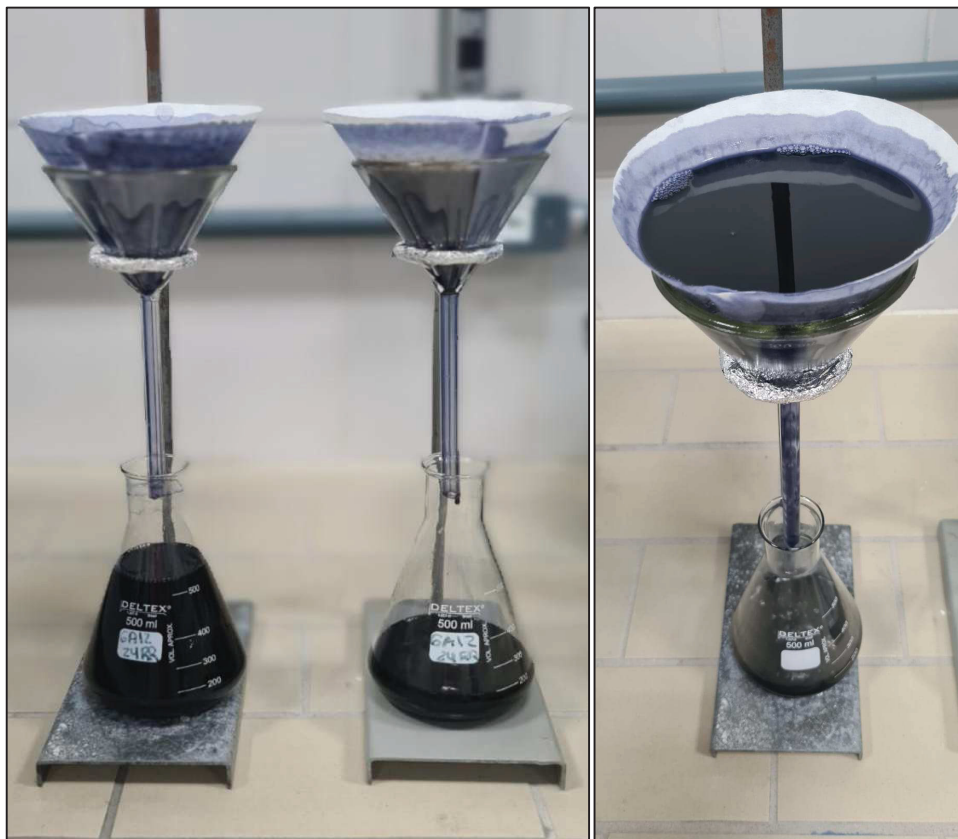
A separação do “geo” pode ser visualizada na Figura 8, e o extrato “seco”, após evaporação do solvente, pode ser observado na Figura 9.

4.1.3 Policromia

A análise da policromia foi feita por comparação do EEP de cada amostra, separados por tonalidade, previamente identificados e fotografados, segundo a metodologia descrita por Souza (2023).

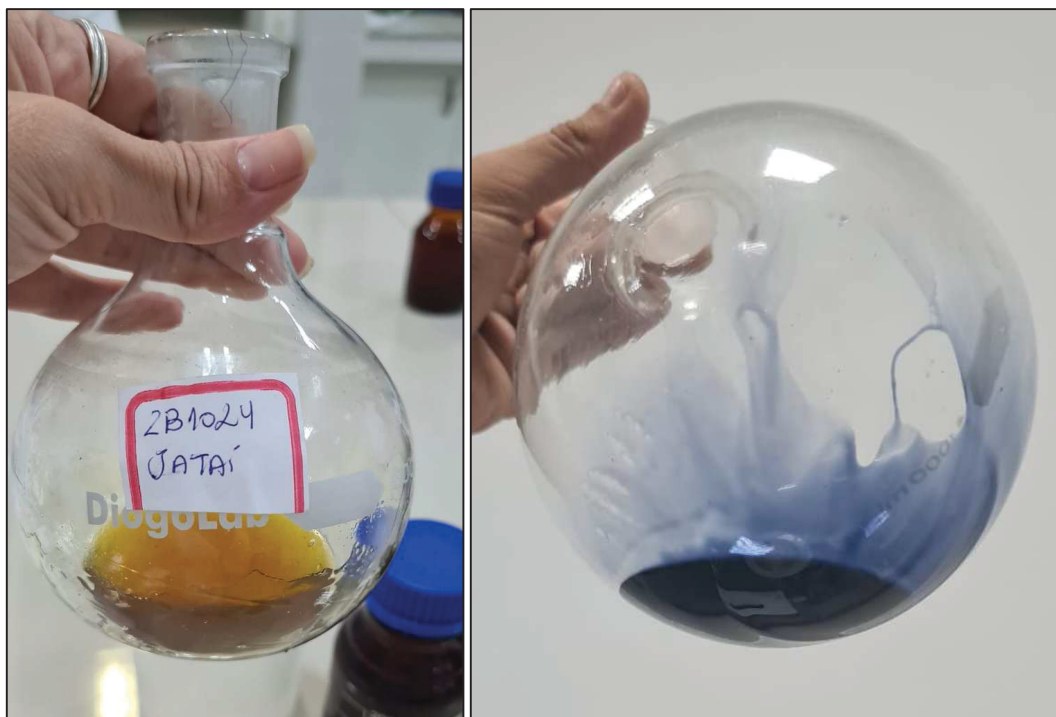
Após o descanso de 10 dias dos extratos etanólicos, considerando a dissolução das amostras, um volume foi transferido para os tubex de vidro transparente para identificação das diferentes tonalidades das amostras de própolis/geoprópolis.

FIGURA 8 – SEPARAÇÃO DO “GEO” DO EXTRATO ALCOÓLICO DA GEOPRÓPOLIS DE ABELHAS MANDAÇAIA



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 9 – EXTRATO DE PRÓPOLIS “SECO” APÓS SECAGEM DO SOLVENTE



FONTE: A autora (2025).

4.1.4 Partição Líquido-Líquido dos extratos

Após a secagem do etanol absoluto o extrato restante no balão do rotaevaporador foi submetido à partição líquido-líquido, por meio do emprego de solventes de polaridades e densidades diferentes: água destilada (H_2O), diclorometano (CH_2Cl_2), acetato de etila ($C_4H_8O_2$) e butanol (C_4H_9OH), o que resultou em quatro frações, respectivamente: aquosa (FAq), diclorometano (FDi), acetato de etila (FAc) e butanol (FBu).

Ao conteúdo do balão, isto é, ao extrato seco de própolis ou geoprópolis foi acrescentado o volume de 50 ml de água destilada, seguido por agitação manual leve. Em seguida, ao mesmo balão foi adicionado 50 ml de diclorometano e na sequência todo o volume foi transferido para o funil de separação, sob agito manual, para a separação da primeira fração, a de diclorometano, FDi ($d=1,33 \text{ g/cm}^3$, nas condições do experimento). O conteúdo filtrado foi pesado, identificado e acondicionado em frasco âmbar, para posteriormente ser conduzido ao rotaevaporador para a evaporação do solvente. No funil de separação restou o extrato com o volume de água destilada ($d=1,0 \text{ g/cm}^3$, nas condições do experimento).

Em seguida, a esse volume restante no funil de separação, foi acrescentado o volume de 50 ml do segundo solvente, o acetato de etila ($d= 0,897 \text{ g/cm}^3$, nas condições do experimento). O volume filtrado, correspondente à fração aquosa (FAq), foi então acondicionado em frasco âmbar, identificado e armazenado para ser conduzido ao rotaevaporador.

Ao conteúdo do funil de separação foi acrescentado o volume de 50 ml de álcool butílico (C_4H_9OH), cuja densidade nas condições do experimento é $d= 0,81 \text{ g/cm}^3$. Após agitação manual e moderada, o volume filtrado caracterizou a fração de álcool butílico (FBu), enquanto o volume restante no funil de separação correspondeu à fração do acetato de etila (FAc). Ambas as partições também foram acondicionadas em frascos âmbar, devidamente identificadas e refrigeradas, até o momento das separações dos solventes em rotaevaporador. O sistema de separação para partição líquido-líquido pode ser visualizado na Figura 10.

Os extratos secos e as suas respectivas frações de diclorometano (FDi), após a secagem total do solvente (diclorometano), foram separados para as etapas sequenciais, ou seja, para o bioensaio com *zebrafish*.

FIGURA 10 – SISTEMA PARA SEPARAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DAS FRAÇÕES



FONTE: A autora (2025).

4.1.5 Análise da composição química dos extratos de Própolis/Geoprópolis

A identificação do perfil químico dos extratos etanólicos de própolis/geoprópolis foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (HPLC/MS). As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas – LCEM, no Departamento de Bioquímica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná – Curitiba-PR e a metodologia foi adaptada de Jansen (2015) e Santos (2023).

As análises foram conduzidas utilizando-se um cromatógrafo UFLC Shimadzu e um espectrômetro de massas MicroToF QII da Bruker. Uma coluna de fase reversa Synergi Fusion-RP C18 Phenomenex (150 x 2 mm, 4 μ m) foi usada com uma pré-coluna de mesma fase. A fase móvel consistiu em água (A) e metanol (B), ambos contendo 0,1 % de ácido fórmico. A eluição foi realizada em modo gradiente, sendo 20% B em 0 min; 90% B em 28 min; 90% B em 38 min; 20% B em 48 min e 20% B

em 55 min. O fluxo foi mantido em 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ e a temperatura da coluna em 40°C . O volume de injeção foi de 5 μL .

Os parâmetros da fonte de ionização (eletrospray no modo negativo) foram os seguintes: voltagem do capilar 3500 V, end plate offset de -500 V, pressão do gás nebulizador (nitrogênio) de 2 bar, fluxo do gás de secagem (nitrogênio) 6 L/min e temperatura do gás de 180 C. Já os parâmetros da fonte de ionização (eletrospray no modo positivo) foram os seguintes: voltagem do capilar 4500 V, end plate offset de 500 V, pressão do gás nebulizador (nitrogênio) de 2 bar, fluxo do gás de secagem (nitrogênio) 6 L/min e temperatura do gás de 180 C.

O instrumento foi calibrado com formato de sódio 10 mM. A aquisição de dados nos modos de ionização positivo e negativo para cada uma das amostras foi realizada com o software Bruker Compass Data Analysis 4.1.

4.1.6 Bioensaios com *zebrafish*

O protocolo de bioensaios com *zebrafish* para avaliação da toxicidade aguda, do efeito ansiolítico e respectivo mecanismo de neuromodulação, e do efeito anticonvulsivante da própolis e geoprópolis (extratos secos e FDi) foram realizados no laboratório da Universidade Estadual do Ceará, via colaboração entre a UECE e a UFPR. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (CEUA-UECE; nº 04983945/2021), estando de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal.

Os peixes-zebra (*Danio rerio*) (idade de 90 a 120 dias; $0,4 \pm 0,1$ g, $3,5 \pm 0,5$ cm), silvestres, de ambos os sexos, foram adquiridos comercialmente (Fortaleza, CE). Os animais foram mantidos em um aquário de vidro de dimensões $30 \times 15 \times 20$ cm de 10 L ($n = 3/\text{L}$), com água clorada (ProtecPlus) e bomba de ar com filtros submersos, sob uma temperatura de 25°C e pH 7,0, Ciclo circadiano de 14 - 10h (claro/escuro). Os peixes receberam ração (Spirulina) *ad libitum* 24h antes dos experimentos. Antes das aplicações dos medicamentos, os animais foram anestesiados em água gelada e após os experimentos, os animais foram sacrificados por imersão em água gelada (2 e 4°C) por 1 min até a perda dos movimentos operculares.

Segundo o protocolo geral, peixes-zebra de ambos os sexos foram selecionados aleatoriamente para os experimentos, anestesiados em água gelada e transferidos para uma esponja úmida, onde receberam 20 μL da amostra por via

intraperitoneal. Para as amostras de própolis e geoprópolis das espécies mandaçaia, jataí e manduri provenientes da microrregião de Curitiba, as doses testadas foram de 40 mg/kg, 200 mg/kg e 400 mg/kg. Já para as amostras de própolis de abelha mandaçaia oriundas da região litorânea, foram administradas doses de 4 mg/kg, 20 mg/kg e 40 mg/kg. Como controles, foram utilizados Diazepam (4 mg/kg) e DMSO 3%. A etapa de tratamento individual por via peritoneal pode ser visualizada na Figura 11.

4.1.6.1 Drogas e reagentes

Para os bioensaios foram utilizadas as seguintes substâncias comerciais: Diazepam (DZP, Neo Química) e Dimetilsulfóxido (3% DMSO), adquiridos em farmácias locais (Fortaleza, Ceará).

FIGURA 11 – TRATAMENTO INDIVIDUAL DO ZEBRAFISH VIA PERITONEAL



FONTE: Adaptado de autora (2025).

4.1.6.2 Avaliação da toxicidade aguda 96h

Os peixes (n = 6 / grupo) que foram tratados seguindo as orientações do protocolo geral, foram deixados em repouso para análise da taxa de mortalidade por um período de 96h, registrando-se a cada 24h o número de peixes mortos em cada grupo (Oecd, 1992), sendo a dose letal capaz de matar 50% dos animais (DL₅₀) determinada pelo método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95%.

4.1.6.3 Avaliação da atividade locomotora (Teste de Campo Aberto - OFT)

Para as amostras que não apresentaram efeito ansiolítico, realizou-se o teste de campo aberto com o objetivo de avaliar possíveis alterações na coordenação motora dos animais, indicativas de sedação e/ou relaxamento muscular (Magalhães *et al.*, 2017). Esse ensaio permite identificar alterações comportamentais associadas à atividade locomotora, contribuindo para a verificação de bioatividade dos compostos (Ferreira *et al.*, 2020; Magalhães *et al.*, 2017).

A velocidade de natação e a quantificação dos padrões de movimentação são parâmetros essenciais para determinar se o composto avaliado é capaz de induzir estímulos que modifiquem o comportamento naturalmente ansioso do animal, sendo esperado que este manifeste respostas compatíveis com os efeitos antecipados (Mildenberger; Taylor; Wolff, 2017). Assim, o teste permitiu verificar se houve restrição da locomoção, resultando em um animal mais estático, ou se o padrão de nado permaneceu regular (Gebauer *et al.*, 2011).

O teste de campo (open field test) aberto foi adaptado da metodologia proposta por Ahmad e Richardson (2013), e executado em Placas de Petri para a observação da atividade locomotora de *zebrafish* adulto sob a ação de fármacos analgésicos (Magalhães *et al.*, 2017).

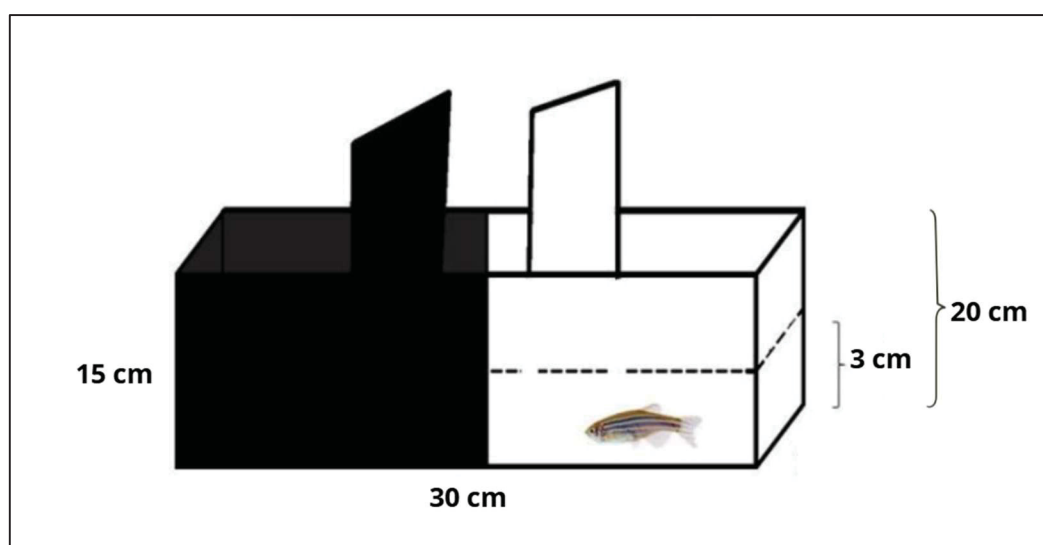
Inicialmente, os animais (n=6/grupo) foram submetidos ao tratamento intraperitoneal (*i.p.*) com as diferentes doses da amostra (40, 200 e 400 mg/kg; 20 µL, *i.p.*, ou 4, 20 e 40 mg/kg, 20 µL, *i.p.*), ou com Diazepam (DZP; 4 mg/kg), ou ainda com o controle (DMSO 3%). Após 30 minutos da administração dos tratamentos, os animais foram transferidos para placas de Petri de vidro (10 × 15 cm) contendo água do aquário e subdivididas em quatro quadrantes. Em seguida, procedeu-se à análise da atividade locomotora por meio da contagem do número de cruzamentos de linhas (CL), a fim de avaliar a presença ou ausência de alterações na coordenação motora dos animais (Ferreira, 2022), seja em decorrência de um possível efeito ansiolítico e/ou de relaxamento muscular.

4.1.6.4 Avaliação da ação ansiolítica

O comportamento de ansiedade de um animal pode ser observado através do teste do claro/escuro. Semelhante aos roedores, o *zebrafish* evita naturalmente as

áreas iluminadas (Gonçalves *et al.*, 2020). O experimento foi realizado em um aquário de vidro (30 x 15 x 20 cm) dividido em uma zona clara e outra escura. O aquário foi preenchido com volume de 3 cm de altura com água da torneira sem cloro, o que simulou um novo ambiente raso diferente do aquário convencional e capaz de induzir comportamentos de ansiedade. Foram administradas as amostras nos animais, como citado no protocolo geral. O aparato experimental segue esquematizado na Figura 12.

FIGURA 12 – ESQUEMA DE APARATO PARA TESTE DE PREFERÊNCIA DO CLARO ESCURO PARA AVALIAÇÃO DE EFEITO ANSIOLÍTICO



FONTE: Adaptado de Ferreira (2020).

Os grupos de controle negativo e positivo consistiram em DMSO 3% e solução de Diazepam 4 mg/kg, respectivamente. Após 60 minutos da administração, os animais foram colocados individualmente na zona clara e o efeito ansiolítico foi medido com base no tempo gasto na zona clara do aquário dentro de 5 minutos de observação (Gebauer *et al.*, 2011).

4.1.6.5 Avaliação da neuromodulação GABAérgica

Os medicamentos da classe dos Benzodiazepínicos são, segundo Guedes *et al.* (2022) agonistas do receptor GABA_A e inibidores da recaptação da serotonina. Dessa forma, a análise do possível efeito ansiolítico visou avaliar se a neuromodulação seria via GABAérgica, através de um pré-tratamento com flumazenil (antagonista GABA_A) previamente ao início do teste claro/escuro. Os peixes (n =

6/grupo) foram pré-tratados com flumazenil (4 mg/kg; 20 µL; *i.p.*) e após 15 minutos foi administrada a dose com maior eficácia ansiolítica encontrada no teste realizado anteriormente. O DMSO 3% (veículo; 20 µL; *i.p.*) foi utilizado como controle negativo. Após 60 minutos dos tratamentos, os animais foram submetidos ao teste claro/escuro.

4.1.6.6 Avaliação da neuromodulação Serotoninérgica

Aos extratos ou FDi de própolis ou geoprópolis que, após o teste da avaliação da neuromodulação GABAérgica, restou observado que o efeito ansiolítico não possuía correlação com a via de neuromodulação GABAérgica, foi realizado um novo experimento para avaliação via de neuromodulação serotoninérgica.

Para tanto, os animais (n = 6/grupo) receberam um pré-tratamento com outros antagonistas: ciproeptadina (antagonista do receptor 5-HT_{2A}), pizotifeno (antagonista dos receptores 5-HT₁ e 5-HT_{2A/2C}) por via oral ou *i.p.*, na dose de 32 mg/kg e granisetron (antagonista do receptor 5-HT_{3A/3B}, 20 mg/kg, via oral) (Benneh *et al.*, 2017). Após 30 minutos da aplicação dos antagonistas foram aplicadas as amostras a serem avaliadas, Fluoxetina (0,05 mg/kg, 20 µL, *i.p.*), DMSO 3% (20 µL; *i.p.*) e a melhor dose das amostras que representou efeito ansiolítico.

Na sequência, foram novamente analisados os comportamentos dos animais no teste de claro e escuro, anotando-se o tempo de permanência na zona clara do aquário dentro de 5 minutos de observação.

4.1.6.7 Avaliação do efeito anticonvulsivante

A reversão da convulsão induzida por pentilenotetrazol foi investigada baseada na metodologia de Siebel *et al.* (2015). Os animais foram tratados com as drogas testes (0,1 – 50 mg/mL; 20 µL;) via intraperitoneal, Diazepam (1,0 mg/mL; 20 µL; v.o.), veículo (DMSO a 3%; 20 µL; v.o.). Um grupo não recebeu tratamento (Naive) e após 60 minutos os animais foram expostos ao PTZ.

Foi avaliado o comportamento induzido, semelhante a uma crise convulsiva, em três estágios: estágio I representado pela atividade de natação dramaticamente aumentada; estágio II caracterizado pelo comportamento de natação em redemoinho e, por fim, estágio III em que as convulsões se assemelham a clônus, seguidas por perda de postura quando o animal cai para um lado e permanece imóvel por um

período compreendido entre 1 e 3 segundos. Os tempos de permanência em cada estágio convulsivo foram anotados (Siebel *et al.*, 2015). O comportamento de cada estágio convulsivo segue esquematizado na Figura 13.

FIGURA 13 – ESTÁGIOS CONVULSIVOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICONVULSIVANTE EM *ZEBRAFISH*



FONTE: Adaptado de Ferreira (2022).

4.1.6.8 Análise estatística

Os resultados foram expressos como valores da média \pm erro padrão da média para cada grupo de 6 animais ($n = 6$). Depois de confirmar a normalidade de distribuição e homogeneidade dos dados, as diferenças entre os grupos foram submetidas à análise de variância - ANOVA unidirecional, seguido do teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com o software GraphPad Prism v. 8.0.1. O nível de significância estatística foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS/GEOPRÓPOLIS DA MC

As própolis/geoprópolis produzidas pelas abelhas mandaçaia, jataí e manduri, oriundas de meliponicultores da microrregião de Curitiba, apresentaram características físicas semelhantes entre si e distintas daquelas observadas nas geoprópolis de mandaçaia provenientes da região litorânea.

Na MC, as amostras das três espécies avaliadas exibiram coloração marrom-escura, altamente pegajosas ao toque e com extratos etanólicos variando da tonalidade marrom-clara à tonalidade amarelo-clara.

As amostras de geoprópolis de mandaçaia continham uma proporção elevada de terra e barro, condizente com o padrão de produção dessa espécie e confirmando a natureza mineral e terrosa da geoprópolis (Santos, 2023).

A Figura 14 apresenta a amostra de geoprópolis *in natura* coletada no município de Mandirituba/PR.

FIGURA 14 – GEOPRÓPOLIS DE ABELHA MANDAÇAIA DA MELIPONICULTURA DA MC



FONTE: A autora (2025).

5.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS/GEOPRÓPOLIS DA RL

As características físicas da geoprópolis *in natura* e seus extratos variaram nas duas localidades de amostragens. A tonalidade azulada dos extratos da geoprópolis de *M. quadrifasciata* é específica para a região do litoral paranaense e foi observada nos extratos etanólicos de todas as amostras coletadas.

No município de Paranaguá, a geoprópolis *in natura* apresentou colorações escuras e texturas rochosas e foscas, enquanto em Morretes as amostras denotaram características físicas distintas, como a tonalidade mais clara do material bruto incrementado por cristais e sedimentos brilhantes, tal como observado por Santos (2023). A amostra de geoprópolis *in natura* coletada no município de Paranaguá pode ser observada na Figura 15.

FIGURA 15 – GEOPRÓPOLIS DE ABELHA MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL DO PARANÁ



FONTE: A autora (2025).

5.2.1 Cálculo do Rendimento dos Extratos Etanólicos

O rendimento médio calculado para os extratos etanólicos podem ser observados na Tabela 3.

TABELA 3 – RENDIMENTO MÉDIO DO EEP PARA AS AMOSTRAS DA MC E RL

Região de Coleta	ID Amostras	Material	Espécie de abelha	Rendimento Médio (%)
RMC	1A0924R	geoprópolis	mandançaia	30,78
RMC	2B1024	própolis	jataí	15,76
RMC	2C1024	própolis	manduri	13,28
RL	7A1224EL	geoprópolis	mandançaia	35,54
RL	6A1224RR	geoprópolis	mandançaia	32,26

FONTE: A autora (2025).

Os valores de rendimento médio foram obtidos por meio de extração, seguida da remoção do etanol absoluto, e todos atendem ao valor mínimo de 11% estabelecido pelo Ministério da Agricultura (Basílio, 2018).

Para a espécie mandançaia, os valores de 30 até 35% de rendimentos evidenciam o elevado potencial extrativo dessa matriz biológica complexa. Essas porcentagens estão em consonância com outros dados reportados na literatura, que descrevem ampla variação nos rendimentos de geoprópolis, entre 24,4% e 44,0%, em função das características intrínsecas desse material (Basílio, 2018; Sousa, 2019).

Ao calcular o rendimento médio de extratos etanólicos de própolis vermelha obtidos com etanol absoluto, Basílio verificou que os valores produzidos pela técnica se situam dentro do intervalo indicado pela literatura, ou seja, de 9,42% e 43,5% (Basílio, 2018).

Além disso, não foram observadas diferenças significativas nos rendimentos dos extratos obtidos em diferentes datas de coleta. Sforcin *et al.* (2017) ao investigarem variações sazonais na composição da própolis, relataram ausência de alterações qualitativas relevantes ao longo do ano. Segundo os autores, as variações são predominantemente quantitativas, mantendo-se, em todas as estações, concentrações expressivas dos compostos biologicamente ativos, o que pode influenciar no rendimento das extrações etanólicas.

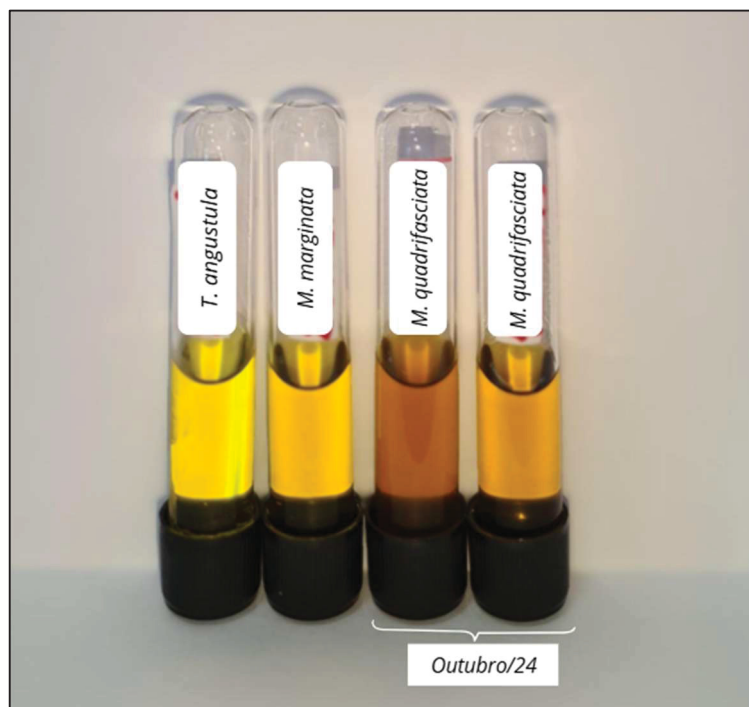
5.2.2 Análises de policromia

Santos (2023) corrobora a observação de outros autores de que exemplares da mesma espécie de abelha podem apresentar comportamentos de seletividade no momento da coleta das resinas vegetais, o que justifica a diferença das tonalidades das própolis e geoprópolis, inclusive das produzidas em meliponários adjacentes.

Os extratos das própolis e geoprópolis produzidas pelas espécies *M. quadrifasciata*, *T. angustula* e *M. marginata* da MC apresentaram a tonalidade amarela, com um gradiente de cores variando do amarelo claro para a abelha jataí, ao amarelo escuro quase num tom marrom claro, para uma das amostras de geoprópolis da abelha mandaçaia. Para cada amostra e repetição não houve diferenciação nas tonalidades de própolis, o que demonstra a constância na seletividade das abelhas por determinadas resinas, durante os dois períodos de coletas, outubro de 2024 e abril de 2025. As tonalidades diferenciadas seguem indicadas na Figura 16.

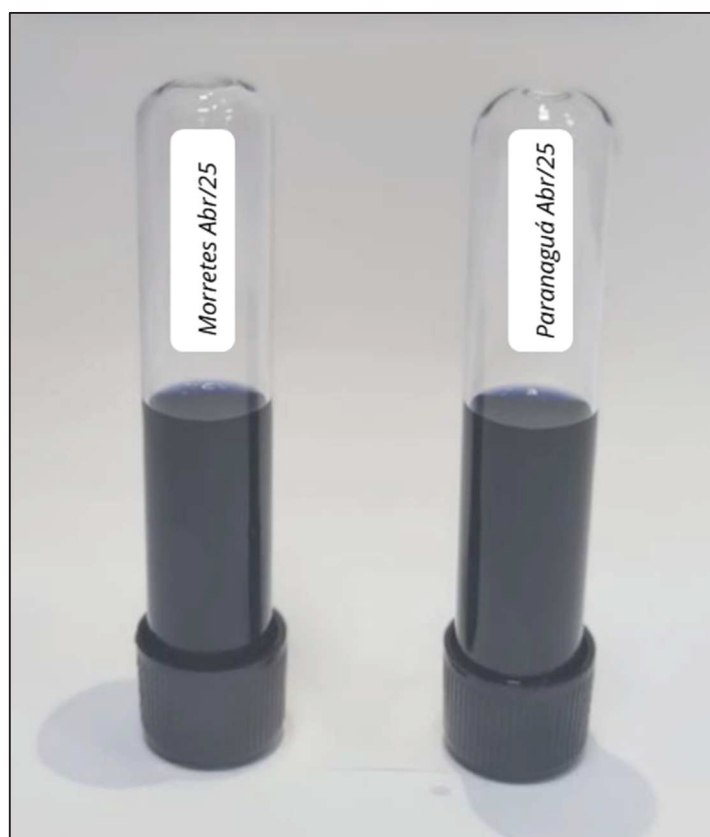
Os extratos das amostras de geoprópolis da espécie *M. quadrifasciata*, obtidas de meliponicultores do litoral paranaense, apresentaram em todas as repetições uma tonalidade azul-escura, como já relatado nos estudos de Santos (2023). Segundo a autora, essa coloração não foi observada em geoprópolis de outras regiões, e até o momento não foram descritos os prováveis fatores responsáveis por esse tom azul característico para a espécie de abelha mandaçaia. Logo, são necessárias investigações mais aprofundadas sobre a própolis azul, especialmente quanto à identificação de marcadores químicos específicos e à análise quantitativa de seus componentes, o que podem contribuir para sua caracterização e reconhecimento como própolis específica (Brasil, 2011). Não foram observadas variações significativas de tonalidade entre os períodos de coleta (outubro de 2024 e abril de 2025), nem entre os distintos locais amostrados (Porto de Cima – Morretes e Colônia Pereira – Paranaguá), conforme ilustrado na Figura 17.

FIGURA 16 – POLICROMIA DA PRÓPOLIS/GEOPRÓPOLIS DA MELIPONICULTURA PRATICADA NA MC



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 17 – POLICROMIA DA GEOPRÓPOLIS DA REGIÃO DO LITORAL



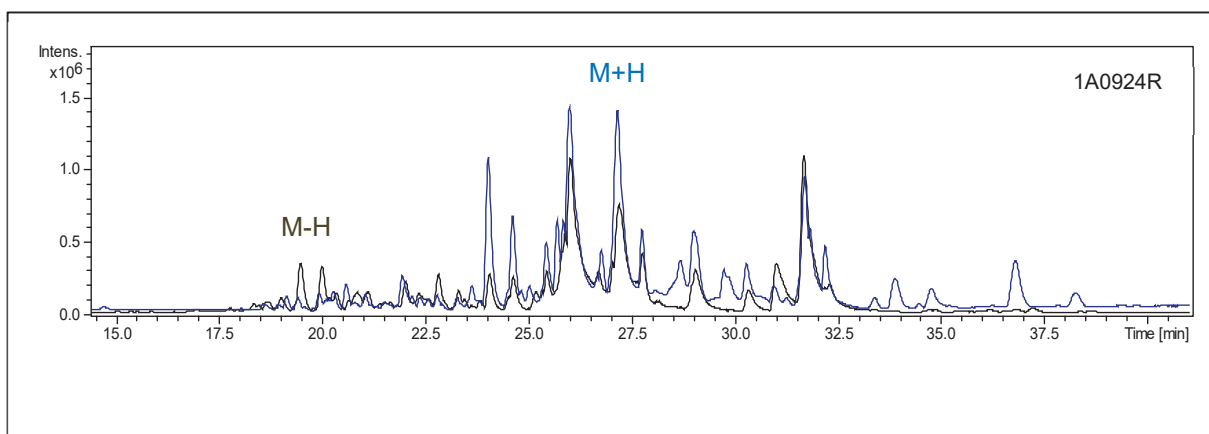
FONTE: A autora (2025).

5.2.3 Perfil químico das geoprópolis de *M. quadrifasciata* da MC e RL

Os dados obtidos pelo software Bruker Compass Data Analysis 4.1, nos modos de ionização positivo e negativo para cada amostra, foram analisados e organizados em tabelas. A avaliação de cada cromatograma (LC/MS) iniciou-se a partir de 5 minutos de tempo de retenção, sendo cada pico cromatográfico registrado. Em seguida, foram identificados e anotados os fragmentos correspondentes, considerando ambos os modos de ionização.

A Figura 18 apresenta o cromatograma (LC/MS) representativo da amostra 1A0924R de extratos de geoprópolis da espécie mandaçaia da MC, em que é possível observar a separação dos diferentes compostos presentes nos extratos ao longo dos tempos de retenção.

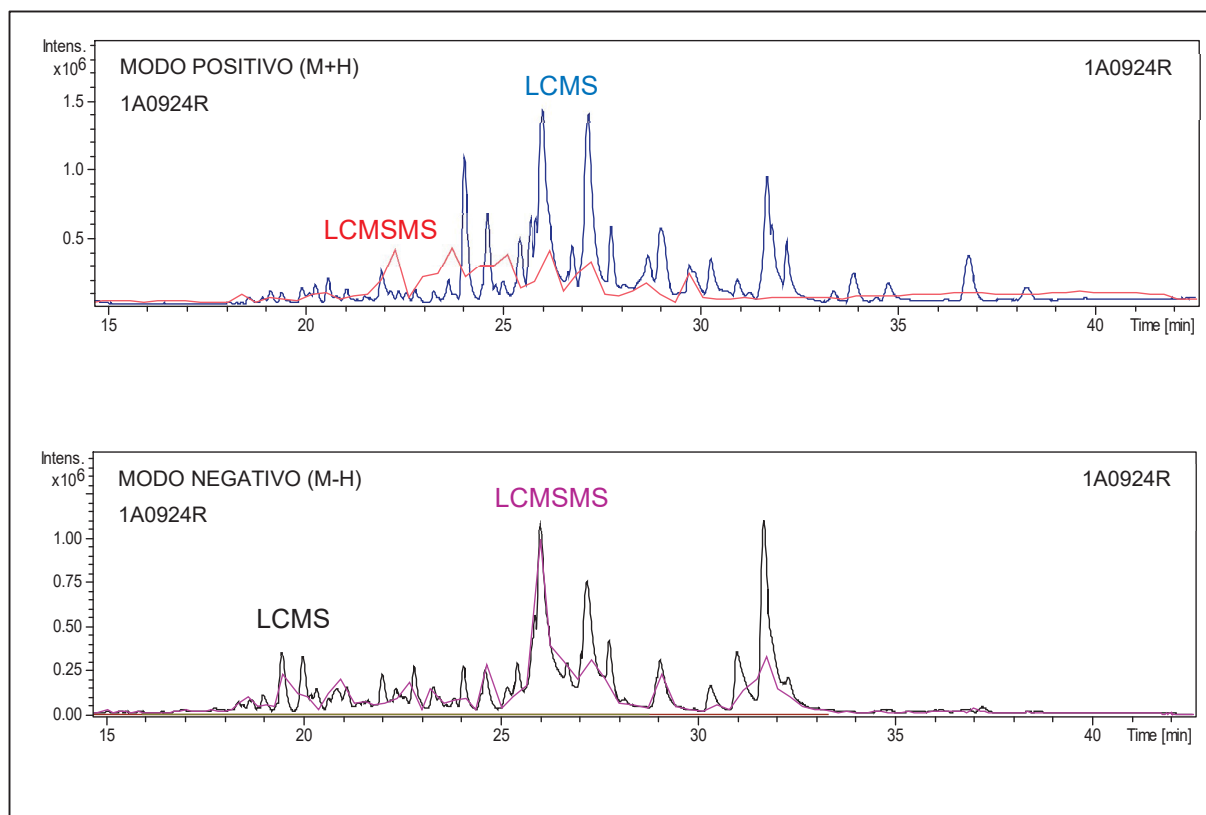
FIGURA 18 – CROMATOGRAMA (LC-MS) DO EEP NOS MODOS POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *M. quadrifasciata* (1A0924R) DA MC



FONTE: A autora (2025).

A Figura 19 ilustra o cromatograma LC-MS e os dados de fragmentação obtidos por LC-MS/MS para a amostra 1A0924R. Para assegurar a cobertura abrangente dos compostos, a aquisição dos dados de MS/MS foi realizada nos modos de ionização positivo e negativo, o que assegura uma avaliação estrutural completa, uma vez que permite a detecção e fragmentação de compostos mais polares e mais apolares.

FIGURA 19 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *M. quadrifasciata* (1A0924R) DA MC



FONTE: A autora (2025).

Os picos cromatográficos da amostra 1A0924R foram submetidos à identificação tentativa, realizada por meio da comparação dos dados de massas e fragmentações (LC-MS/MS), com as informações disponíveis na literatura científica especializada e nos bancos de dados públicos como MassBank (2025) e Pubchem (2025). Os compostos tentativamente identificados no modo de ionização positivo [M+H] encontram-se indicados na Tabela 4, e no modo negativo [M-H] na tabela 5.

TABELA 4 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO POSITIVO [M+H] DA AMOSTRA DE GEOPRÓPOLIS (*M. quadrifasciata*) DA MC

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M+H	173,080	17,7 – 50,0	C ₁₁ H ₁₂ O ₁	-	Derivado Alquilado ou	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei-

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
					Fenilpropa- noíde	tosa <i>et al.</i> , 2025)
M+H	247,1568	16,9 – 21,8	C ₁₆ H ₂₂ O ₂	159,0984; 201,1622	Ácido Cinâmico Prenilado ou Éster Alquilado	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	299,1672	20,6 – 25,4	C ₁₉ H ₂₂ O ₃	145,0871; 197,1283	Ácido Diterpênico / Fenilpropa- noíde	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	287,1311	15,8 – 19,4	C ₁₇ H ₁₈ O ₄	149,0817; 201,138	Flavonoíde Metilado (Ex: Pinocembrina Metil Éter)	(Park <i>et al.</i> 2002)
M+H	289,1763	15,0 – 19,8	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	149,0869; 173,1286	Ácido Diterpênico (Oxigenado)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	295,1538	15,0 – 17,0	C ₁₉ H ₂₂ O ₂	145,0862; 197,1278	Derivado de Ácido Cinâmico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	301,2127	18,9 – 30,8	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	159,1047; 255,2097	Éster de Ácido Graxo (Ex: Metil Oleato)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	303,1653	18,0 – 18,1	C ₁₉ H ₂₂ O ₃	159,1063; 255,2118	Ácido Diterpênico (Ex: Isopima- radienóico)	(Park <i>et al.</i> 2002)
M+H	305,1441	16,1 – 18,3	C ₁₈ H ₂₀ O ₄	159,1039; 201,1611	Éster de Ácido Fenólico / Flavonoíde	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M+H	307,1897	17,3 – 17,4	C ₂₀ H ₂₆ O ₂	257,2261; 303,2325	Álcool Diterpênico (Composto C ₂₀)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	317,7018	15,2 – 24,5	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	255,2078; 299,1990	Ácido Diterpênico (Labdano / Pimarano)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	321,1706	15,4 – 16,9	C ₂₀ H ₂₄ O ₃	175,1404; 255,2131	Ácido Diterpênico (Ex: Ácido Abietadie- nóico)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	333,2024	15,0 – 22,6	C ₂₁ H ₂₈ O ₃	171,0745; 313,1819	Ácido Diterpênico (Ácido Pimara- dienóico C ₂₁)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	337,2138	18,7 – 23,3	C ₂₂ H ₂₈ O ₃	147,1033; 255,2154	Ácido Diterpênico (Ácido Isopi- maradienóico Éster)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	343,1526	16,8 – 27,6	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	243,1954	Glicosídeo de Flavonoide / Fenólico (Perda de 100 Da)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	391,2030	15,5 – 17,6	C ₂₄ H ₃₀ O ₄	149,0103	Éster de Ácido Diterpênico	(Park <i>et al.</i> 2002)
M+H	439,1705	18,9 – 34,6	C ₂₆ H ₂₆ O ₆	177,1512; 287,2380	Lignana ou Dímero Fenólico / Diterpênico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	489,2704	21,6 – 24,4	C ₃₀ H ₃₆ O ₅	161,1256	Dímero Diterpênico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Fei- tosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M+H	581,3184	17,9 – 23,4	C ₃₇ H ₄₀ O ₄	261,2168; 301,2136	Di-Diterpeno / Triglicerídeo (TG)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	625,2828	16,5 – 21,2	C ₃₈ H ₃₆ O ₈	327,2304; 423,2685	Dímero de Ácido Fenólico / Diterpênico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	627,3843	16,2 – 20,0	C ₃₈ H ₅₀ O ₇	323,1991; 511,2948	Tri/Di-Diterpeno Oxigenado	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	639,3891	16,9 – 19,9	C ₃₉ H ₅₀ O ₆	221,1531; 325,2136	Tri/Di-Diterpeno Oxigenado	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	653,3728	16,3 – 18,3	C ₄₀ H ₄₈ O ₇	221,1550; 301,2151	Di-Diterpeno Oxigenado	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	655,3888	18,0 – 25,3	C ₄₀ H ₅₀ O ₇	201,1597; 339,1933	Di-Diterpeno Oxigenado	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	739,4044	16,5 – 16,7	C ₄₆ H ₅₄ O ₈	381,1974	Triglicerídeos	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)

FONTE: A autora (2025).

TABELA 5 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO NEGATIVO [M-H] DA AMOSTRA DE GEOPRÓPOLIS (*M. quadrifasciata*) DA MC

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M-H	303,1973	18,9 – 27,0	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	227,10; 299,19	Ácido Araquidônico ou Diterpeno Reduzido	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	313,1917	20,2 – 31,2	C ₂₀ H ₂₆ O ₃	201,08; 267,13	Ácido Diterpênico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Park <i>et al.</i> , 2002)

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M-H	317,1786	20,7 – 32,0	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	273,18 (CO ₂)	Ácido Diterpênico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015)
M-H	319,1921	19,5 – 32,3	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	257,15; 186,05	Ácido Diterpênico Hidroxilado	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	329,1760	18,4 – 31,2	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	273; 259	Ácido Carnosólico / Derivado Abietano	(Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	333,2018	17,9 – 30,2	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	291; 289	Ácido Epo- Isopimárico / Derivado Oxidado	(Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	335,1875	16,2 – 26,0	C ₂₁ H ₂₈ O ₃	291 (Perda de CO ₂)	Ácido Diterpênico Metilado / Acetilado	(Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	337,1966	17,1 – 23,6	C ₂₁ H ₃₀ O ₃	291; 275	Ácido Diterpênico (Éster Metílico)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	345,1720	17,6 – 30,2	C ₂₀ H ₂₆ O ₅	283; 299	Diterpeno Lactona (Tipo Rosmanol)	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	349,1977	16,0 – 28,0	C ₂₀ H ₃₀ O ₅	305 (CO ₂); 269	Ácido 7 - Hidroxi- Royleanona (ou similar)	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	357,1787	23,3 – 27,0	C ₂₁ H ₂₆ O ₅	315; 317	Derivado de Ácido Carnosólico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	363,1778	16,3 – 31,2	C ₂₀ H ₂₈ O ₆	319; 275	Ácido Diterpênico (Oxidado)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M-H	377,2351	22,4 – 27,3	C ₂₃ H ₃₂ O ₅	333 (CO ₂)	Ácido Diterpênico Acilado (Acetil- Derivado)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	399,1837	21,0 – 23,3	C ₂₄ H ₃₂ O ₅	351; 349	Flavonoide Prenilado / Diterpeno Complexo	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	407,2072	17,7 – 22,1	C ₂₄ H ₃₂ O ₅	363; 319	Dímero Diterpênico / Flavonoide	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	433,1811	16,0 – 24,7	C ₂₅ H ₃₀ O ₆	335	Flavonoide Prenilado (Ex: Nymphaeol)	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	601,3581	23,3	C ₃₈ H ₅₀ O ₆	289	Dímero de Ácido Diterpênico	(Santos, 2023)
M-H	623,3552	17,4 – 32,7	C ₃₈ H ₅₆ O ₆	299; 301	Dímero de Ácido Diterpênico (≈301)	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	635,3689	22,4 – 32,3	C ₃₉ H ₆₄ O ₆	317; 315	Dímero de Ácido Diterpênico (317+319)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	643,3498	23,3 – 28,7	C ₄₀ H ₅₂ O ₇	335; 299	Dímero de Ácido Diterpênico (335+299)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	659,3765	21,0 – 32,7	C ₄₀ H ₆₈ O ₇	319; 349	Dímero de Ácido	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> ,

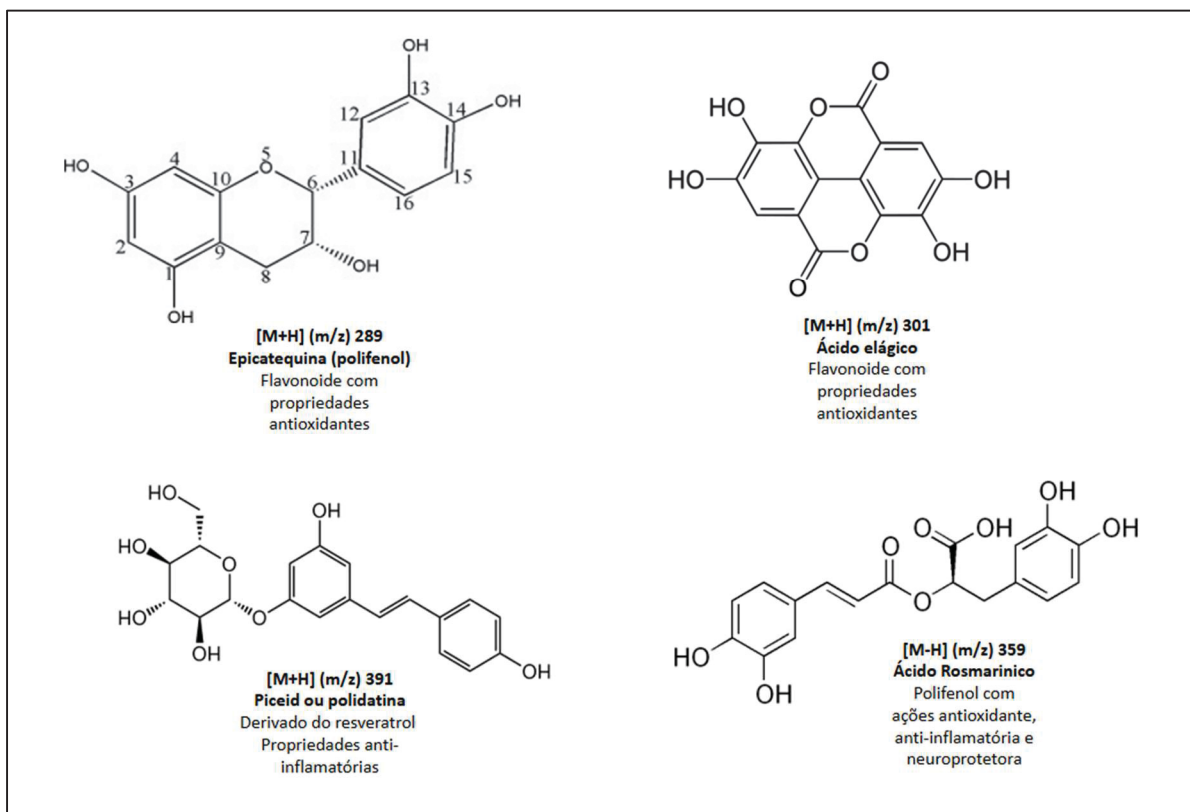
continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
					Diterpênico (319+349)	2025; Santos, 2023; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M-H	663,3976	22,7 – 29,8	C ₄₂ H ₆₄ O ₆	329,17; 299,20	Dímero de Ácido Diterpênico	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	675,4028	22,7 – 31,5	C ₄₂ H ₆₀ O ₇	335,21; 319,22	Dímero de Ácido Diterpênico (336 + 320 Da)	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	681,3658	21,0 – 30,2	C ₄₁ H ₅₄ O ₈	349,20; 333,20	Dímero de Ácido Diterpênico	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	685,3918	21,6 – 29,8	C ₄₁ H ₅₈ O ₈	349,20; 331,19	Dímero de Ácido Diterpênico	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	689,4077	20,7 – 27,7	C ₄₁ H ₆₂ O ₈	335,22; 355,18	Dímero de Ácido Diterpênico	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	691,4151	21,2 – 28,6	C ₄₂ H ₆₀ O ₈	331,18; 361,24	Dímero de Ácido Diterpênico	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	705,4072	22,1 – 23,6	C ₄₄ H ₆₆ O ₇	351,21; 369,18	Dímero de Ácido Diterpênico	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	715,4053	21,0 – 25,1	C ₄₅ H ₆₄ O ₇	333,20; 377,24	Dímero de Ácido Diterpênico (334 + 378 Da)	(Park <i>et al.</i> 2002)
M-H	723,4279	22,1 – 23,6	C ₄₆ H ₆₈ O ₇	351,21; 335,21	Dímero de Ácido Diterpênico	(Park <i>et al.</i> 2002)

FONTE: A autora (2025).

A Figura 20 apresenta sugestões de fórmulas estruturais atribuídas a alguns dos compostos identificados no perfil químico analisado.

FIGURA 20 – SUGESTÕES DE FÓRMULAS ESTRUTURAIS DE ÍONS (M/Z) IDENTIFICADOS NO PERFIL QUÍMICO DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *M. quadrifasciata*



FONTE: A autora (2025).

O perfil químico obtido por LC-MS/MS para a geoprópolis de *M. quadrifasciata* (mandioca) proveniente da meliponicultura da MC evidencia a matriz lipídica complexa e a alta concentração de diterpenoides, um padrão quimiotaxonômico distintivo das própolis de abelhas sem ferrão do Sul do Brasil.

Esta composição diverge marcadamente da própolis europeia, que é majoritariamente fenólica, conforme a distinção estabelecida por Park *et al.* (1998). A ausência de íons de baixa massa molecular, tipicamente associados a ácidos fenólicos e flavonoides simples (M-H 163, 179, 269, 301), é coerente com o perfil da geoprópolis, que geralmente tem baixo teor de flavonoides em comparação à própolis europeia (Cardozo *et al.*, 2015). A análise integrada das frações ionizadas nos modos positivo e negativo revela uma forte coincidência quimiotaxonômica com perfis previamente publicados para esta espécie, como os compostos estudados por Cardozo *et al.* (2015).

A fração ácida e bioativa da geoprópolis foi claramente definida pelo modo de ionização negativo [M-H], em que prevalecem íons moleculares correspondentes a

Ácidos Diterpênicos livres (Cardozo *et al.*, 2015; Feitosa *et al.*, 2025). Picos de massa como m/z 317,17 ($C_{20}H_{30}O_3$), provável Ácido pimaradienóico ou isopimaradienóico, e m/z 335,18 (derivado metilado ou acilado) são consistentemente relatados na literatura como marcadores quimiotaxonômicos de geoprópolis brasileira, muitas vezes derivados de resinas de *Araucaria angustifolia* ou, mais comumente, de espécies de *Baccharis* (Asteraceae), típicas da região sul do Brasil (Feitosa *et al.*, 2025; Santos, 2023). Tais identificações são apoiadas pelo padrão de clivagem, que apresenta a perda neutra característica de CO_2 (44 Da), confirmando a funcionalidade de ácidos carboxílicos nestas moléculas (Velikova *et al.*, 2000). A presença do íon m/z 329,17 (provável Ácido Carnosólico ou derivado) reforça a possível coleta de fontes da família Lamiaceae ou Asteraceae, corroborando a natureza polifloral da geoprópolis da espécie mandaçaia proveniente da meliponicultura da microrregião de Curitiba.

Piccinini *et al.* (2022), em seu estudo, também reportam a proeminência de diterpenoides como responsáveis pela bioatividade da própolis de *M. quadrifasciata*, indicando que estes compostos (e seus derivados, como o pico m/z 335,18 são os principais constituintes ativos da geoprópolis de abelha mandaçaia. Observa-se, por comparação direta de massas, o perfil diterpênico dominante reportado por Lavinias *et al.* (2019) e o eixo químico central da geoprópolis discutido por Molina (2023).

Uma característica que distingue a amostra é a vasta presença de íons de alta massa molecular (acima de m/z 600) no modo negativo [M-H] os quais se fragmentam quase que exclusivamente nos monômeros diterpênicos identificados, sendo classificados como Dímeros de Ácidos Diterpênicos (Feitosa *et al.*, 2025; Park *et al.*, 1998; Park; Alencar; Aguiar, 2002; Santos, 2023). Picos como m/z 623,35, m/z 683,36 e m/z 715,40 são representações de heterodímeros (ex: 317+363 ou 333+377), formados pela união de dois ácidos diterpênicos. Esta dimerização é um processo químico chave que diferencia a geoprópolis da própolis convencional da espécie *Apis mellifera*, conferindo maior estabilidade e, potencialmente, modificando a atividade biológica (Feitosa *et al.*, 2025; Molina, 2023). A fração não volátil pode ser confirmada e complementada pela fração volátil identificada por Santos (2023), em que a presença de monoterpenos leves, como α -pineno e limoneno, resultantes da volatilização ou degradação das resinas, reforça a origem de coníferas e/ou eucaliptos na escolha da espécie mandaçaia por recursos florais com elevada quantidade de resinas, ligando a estrutura primária (diterpenos) aos seus precursores voláteis.

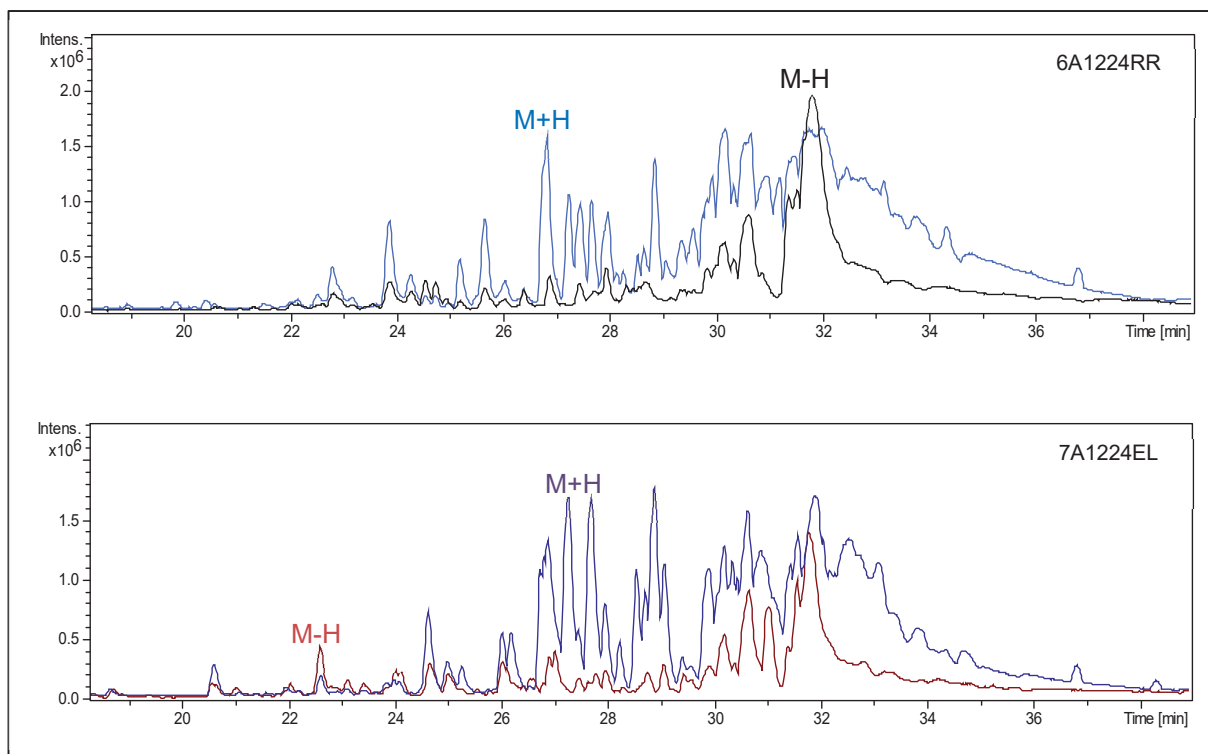
O modo de ionização positivo [M+H] complementa a análise ao focar na fração lipídica e neutra, que é abundante na geoprópolis da espécie mandaçaia. A alta intensidade de picos na faixa de m/z 650 a 980 é característica de triglicerídeos. O pico proeminente em m/z 977,72 e seus fragmentos confirmam a presença de lipídios de cadeia longa, cuja constituição lipídica é fundamental, uma vez que o material é misturado com cera e materiais do solo para a construção do ninho, o que a torna intrinsecamente mais lipofílica do que as própolis de Apis (Molina, 2023; Park *et al.*, 1998). Adicionalmente, a presença de íons como m/z 287,13 (provável Pinocembrina Metil Éter) e m/z 433,18 (Flavonoide Prenilado) demonstra a ocorrência de compostos fenólicos típicos, embora em menor concentração que os diterpenos, sugerindo a diversidade de fontes vegetais exploradas, como as famílias Fabaceae ou Moraceae, além das Asteraceae (Velikova *et al.*, 2000).

De igual forma foi realizada a identificação do perfil químico dos extratos de geoprópolis de *M. quadrifasciata* proveniente de meliponicultores do litoral do Paraná. A Figura 21 apresenta o cromatograma (LC/MS) representativo das amostras 6A1224RR e 7A1224EL de extratos de geoprópolis da espécie mandaçaia, em que é possível observar a separação dos diferentes compostos presentes nos extratos ao longo dos tempos de retenção. Cada pico no cromatograma corresponde a um composto ou a um grupo de compostos.

A Figura 22, por sua vez, demonstra o cromatograma LC-MS e os dados de fragmentação obtidos por LC-MS/MS para a amostra 6A1224RR. Para assegurar uma cobertura abrangente dos compostos presentes, a aquisição dos dados de MS/MS foi realizada nos modos de ionização positivo e negativo, o que representa uma avaliação estrutural completa, uma vez que permite a detecção e fragmentação tanto de compostos mais polares quanto dos apolares. A Figura 23 demonstra o cromatograma LC-MS e o espectro de fragmentação (LC-MS/MS) correspondentes à amostra 7A1224EL.

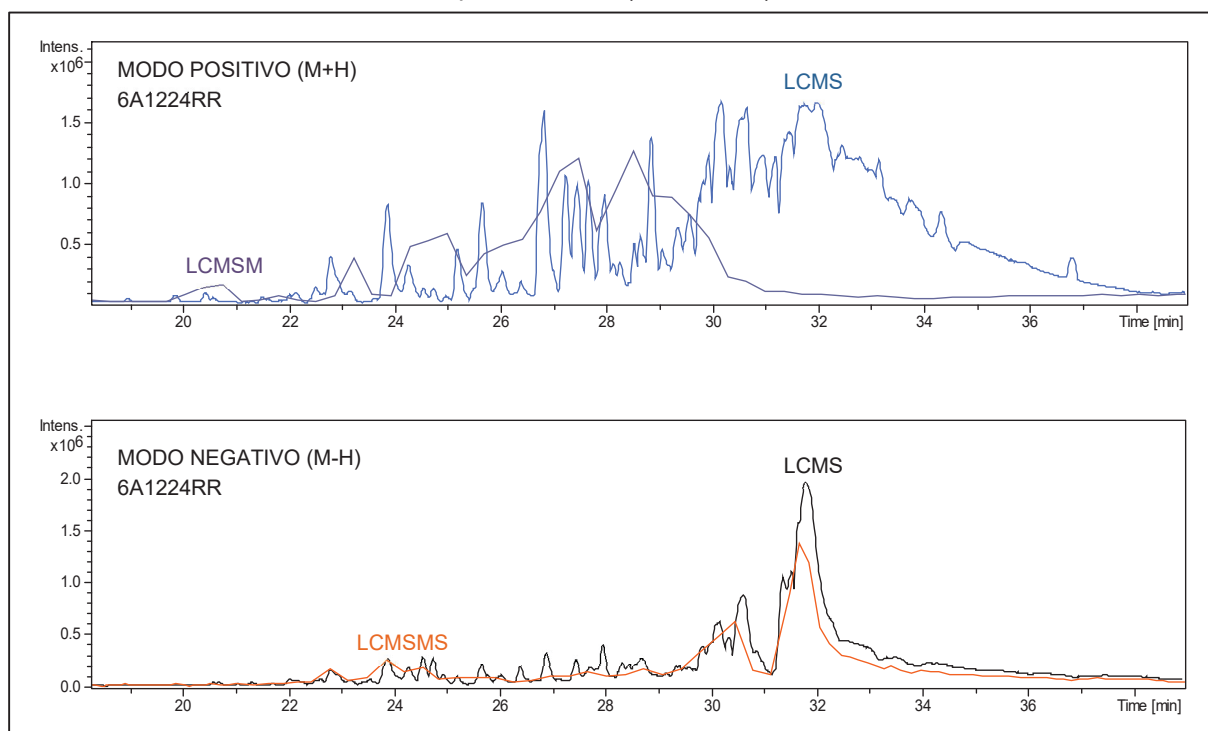
Os picos cromatográficos com ocorrência comum em ambas as amostras, tanto nos modos de ionização positivo quanto negativo, foram submetidos à identificação tentativa. Esta atribuição foi realizada por meio da comparação dos dados de massas e fragmentação (LC-MS/MS) com informações disponíveis na literatura científica especializada. Os compostos tentativamente identificados a partir desta metodologia encontram-se indicados na Tabela 6.

FIGURA 21 – CROMATOGRAMA (LC-MS) DO EEP NOS MODOS POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *M. quadrifasciata* DA REGIÃO DO LITORAL



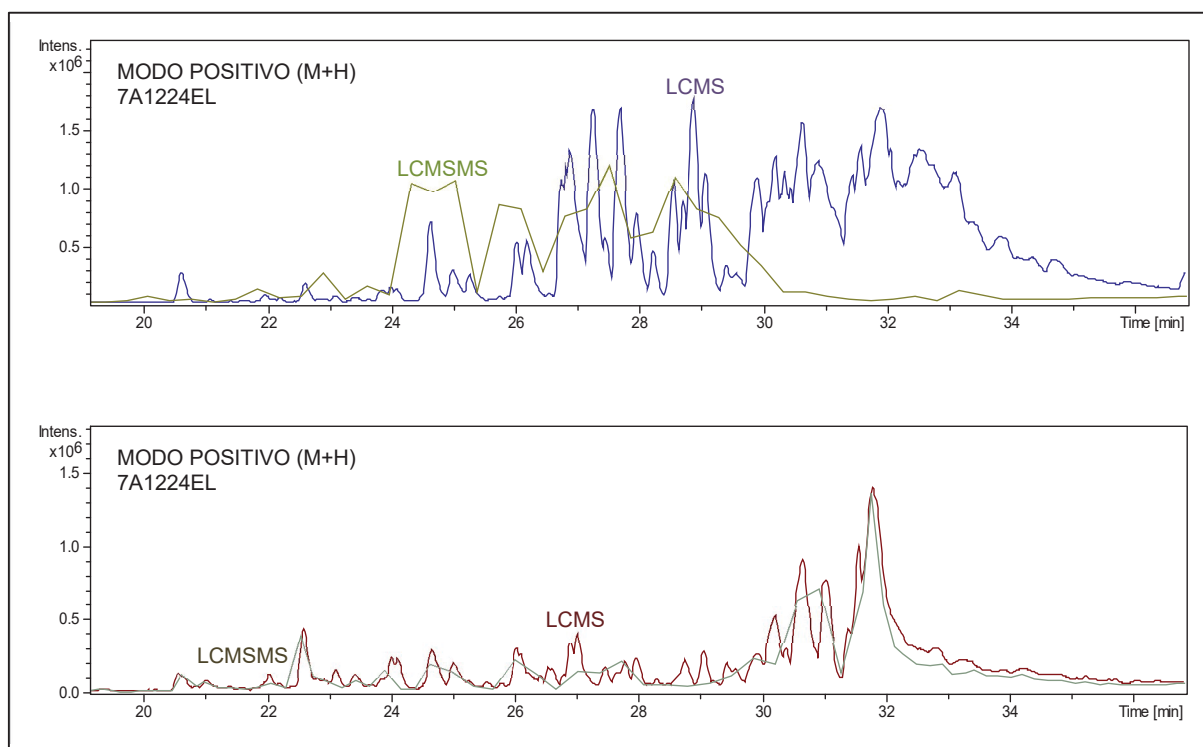
FONTE: A autora (2025).

FIGURA 22 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *M. quadrifasciata* (6A1224RR)



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 23 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *M. quadrifasciata* (7A1224EL)



FONTE: A autora (2025).

TABELA 6 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DAS AMOSTRAS DE GEOPRÓPOLIS (*M. quadrifasciata*) DA REGIÃO DO LITORAL

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M-H	347,2223	24,8	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	299,0957 (M-H - 48 Da)	Ácido Diterpenoide C23	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	359,1607	24,8	C ₂₀ H ₂₄ O ₅	205,0514	Ácido Resinoíde C20 Oxigenado	(Santos, 2023)
M-H	361,2027	24,9 – 25,6	C ₂₂ H ₃₀ O ₃	205,0481; 317,2150 (M-H - 44 Da)	Ácido 15-Acetoxi-isocupressico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; 2002)
M-H	387,1847	24,6 – 26,2	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	369,1707 (M-H - 18 Da); 315,1260 (M-H - 72 Da)	Ácido Diterpenoide C20	(Velikova <i>et al.</i> , 2000)

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M+H	319,2179	N/D	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	N/D (Massa do Monômero Base)	Núcleo Diterpênico Básico	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	549,3115	28,6 – 36,3	C ₃₃ H ₄₄ O ₇	Fragmento Chave 357 (Perda de C ₁₃ H ₈ O ₄)	Éster Diterpenoide / Glicosídeo	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	589,3114	23,9 – 28,9	C ₃₄ H ₅₀ O ₈	287,1259; 315,1315	Marcador: Di-éster Diterpênico	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	591,3046	25,2 – 30,5	C ₃₆ H ₄₈ O ₇	491,2688; 547,3113 (M-H – 44 Da)	Análogo do Marcador (589)	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	589,3538	29,0 – 31,2	C ₃₆ H ₅₂ O ₇	385 (Fragmento do núcleo)	Marcador Éster Diterpenoide Complexo	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	787,5307	32,4 – 35,1	C ₄₉ H ₇₆ O ₆	N/D (Massa muito alta)	Dímero Diterpenoide (C40)	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	847,4334	27,4 – 30,5	C ₄₅ H ₆₆ O ₁₁	N/D (Massa muito alta)	Oligômero Diterpenoide / Tri-éster	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M+H	995,6235	27,3	C ₅₈ H ₈₀ O ₁₀	N/D (Massa muito alta)	Oligômero Diterpênico (Trímero / Tetrâmero)	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	405,1835	24,9 – 25,7	C ₂₄ H ₂₆ O ₅	315,1147 (M-H – 90 Da)	Ácido Fenólico Diterpênico	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)
M-H	557,3192	25,6 – 27,9	C ₃₆ H ₄₆ O ₆	287,1363; 333,1346	Éster Diterpenoide	(Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Park <i>et al.</i> , 2002)

FONTE: A autora (2025).

A análise do perfil químico do EEP da espécie mandaçaia da região do litoral revelou uma alta complexidade dos picos cromatográficos identificados, diferenciando-a das classificações geoquímicas regionais estabelecidas para outras

própolis de espécies de abelhas com ferrão, como a própolis verde, cuja fonte botânica principal é o alecrim-do-campo (*Baccharis*) (Cardozo *et al.*, 2015; Feitosa *et al.*, 2025; Park *et al.*, 2002).

As amostras de geoprópolis analisadas, de tonalidade azul, demonstraram uma forte predominância de metabólitos pertencentes à classe dos diterpenoides. As massas e os padrões de fragmentação (MS/MS) identificados são análogos às estruturas resinoides descritas para outras geoprópolis brasileiras (Feitosa *et al.*, 2025; Santos, 2023). O cromatograma indicou um conjunto significativo de picos de massa elevada ($M > 500$ Da), sugerindo a presença de uma matriz complexa de polímeros e ésteres (Feitosa *et al.*, 2025).

O modo de ionização negativo permitiu a identificação dos monômeros diterpênicos ácidos, que serviram como base para as moléculas mais complexas, identificadas no intervalo de m/z de 340 a 390. Foram detectados os íons $[M-H]$ m/z 361,2027 (possível fórmula molecular $C_{22}H_{30}O_3$) e $[M-H]$ m/z 387,1847 (possível fórmula molecular $C_{22}H_{28}O_5$). Esses perfis iônicos revelam um caráter mais ácido, análogos a diterpenoides caurenóicos, e confirmam o perfil diterpênico das amostras analisadas (Velikova *et al.*, 2000).

Os picos m/z 589,3114 ($C_{22}H_{30}O_3$) e m/z 591,304 ($C_{22}H_{30}O_3$) que se repetiram nas amostras das duas localidades analisadas são sugestivos de compostos de diésteres diterpênicos. Esta classe de compostos químicos é reconhecida pela sua bioatividade e foi descrita em geoprópolis de *M. quadrifasciata* por Feitosa *et al.* (2025). A clivagem da massa principal (m/z 589,3114) nos fragmentos m/z 287,1259 e m/z 315,1315 demonstra a perda de unidades ésteres ligadas ao núcleo diterpênico, confirmando esta semelhança estrutural com os marcadores de geoprópolis previamente estudadas (Feitosa *et al.*, 2025).

No modo de ionização positivo, tal qual observado para as amostras de geoprópolis da mesma espécie, mas da MC, destacou-se a detecção de íons de alta massa, com forte evidência de polimerização: $[M+H]$ m/z 787,5370 (Dímero) e $[M+H]$ m/z 995,6235 (Oligômero). Segundo Park *et al.* (1998) a presença destes oligômeros diterpênicos de alta massa é característica da própolis Tipo 12 brasileira. Isso sugere que, apesar da coloração azul dos extratos, a fonte vegetal da geoprópolis fornece resinas ricas em monômeros diterpênicos, que são subsequentemente sujeitos à polimerização pela abelha mandaçaia ou sob condições ambientais específicas. A

caracterização completa destas estruturas poliméricas é essencial para desvendar a matriz resinosa desta geoprópolis.

O íon molecular [M-H] de m/z 361,2390 é altamente relevante, pois o ácido 15-acetoxi-isocupressico foi tentativamente identificado em geoprópolis do Paraná (Cardozo *et al.*, 2015). Este composto também pertence à classe dos diterpenoides (ácidos terpênicos), que são constituintes principais esperados na geoprópolis de *M. quadrifasciata*.

A comparação entre os picos de massa no modo de ionização positivo [M+H] revelou a presença consistente de íons de alta massa molecular, indicando uma similaridade da matriz química diterpênica. A coincidência de massas exatas com precisão em partes por milhão (ppm) sugere que estes são os marcadores químicos estáveis e característicos da geoprópolis de *M. quadrifasciata* nesta região, como os marcadores m/z 319,2179, identificado na amostra 6A1224RR, e o íon m/z 319,2171, identificado na amostra 7A1224EL. Outro íon protonado presente em ambas as amostras é o m/z 589,35, cuja massa indicada na amostra 6A1224RR foi de 589,38, enquanto na amostra 7A1224EL foi de 589,3598. Esses ésteres diterpenoides são encontrados em outras geoprópolis brasileiras (Bankova, 2005; Velikova *et al.*, 2000).

A predominância de diterpenoides (compostos C₂₀) e seus oligômeros (C₄₀₊) na fração não volátil (analisada por LCMS/MS) das amostras de geoprópolis estabelece coerência metabólica com os achados da fração volátil. Assim, esta matriz diterpênica complexa é metabolicamente consistente com os resultados de Santos (2023), que, ao analisar compostos de baixa massa molecular e de alta volatilidade (óleo essencial da geoprópolis de abelha mandaçaia da região do litoral do Paraná, via GCMS), identificou uma alta concentração de mono- (C₁₀) e sesquiterpenos (C₁₅), como α -pineno; β -pineno e β -bisaboleno (Santos, 2023). A presença determinante de diterpenoides na fração não volátil reflete o amplo metabolismo de terpenos (C₁₀, C₁₅, C₂₀, C₄₀) no composto resinoso, sendo uma característica essencial dos recursos vegetais utilizados e do processamento

O perfil volátil indicado por Santos (2023), com destaque para α -pineno e β -pineno frequentemente aponta para fontes botânicas como coníferas (*Araucaria* ou *Pinus*), que são classicamente associadas à produção de diterpenoides (Park; Alencar; Aguiar, 2002).

Os resultados comparativos dos perfis químicos entre as geoprópolis da espécie de abelha mandaçaia em ambas as regiões de estudo revelam uma forte

semelhança quimiotaxonômica, sendo ambas definidas pela predominância de uma complexa matriz lipídica e diterpênica (Molina, 2023; Park; Alencar; Aguiar, 2002). Esta semelhança é confirmada pela detecção consistente de monômeros diterpênicos ácidos livres e de seus derivados diméricos ou oligoméricos (Feitosa *et al.*, 2025; Park; Alencar; Aguiar, 2002).

No entanto, apesar das semelhanças, as amostras não são idênticas, pois apresentam variações nos marcadores iônicos específicos, o que reflete a diversidade botânica regional; enquanto as amostras da MC exibem íons como m/z 317,17 (pimaradienólico/isopimaradienólico) e derivados diterpênicos metilados m/z 335,18 (Piccinini *et al.*, 2022; Santos, 2023; Valcanaia *et al.*, 2022), a geoprópolis do litoral (azul) se distingue por íons ácidos como m/z 361,2027 e m/z 387,1847, análogos a diterpenoides caurenólicos, além de di-ésteres diterpênicos proeminentes (Feitosa *et al.*, 2025; Velikova *et al.*, 2000). A presença de precursores voláteis como α -pineno em ambas as regiões reforça a utilização de fontes resinosas como coníferas (*Araucaria* ou *Pinus*), corroborando a natureza terpenoide geral, mas as distinções finas nos derivados e ésteres estabelecem perfis químicos semelhantes, mas não idênticos, decorrentes de variações na fonte botânica e/ou no processamento enzimático das abelhas.

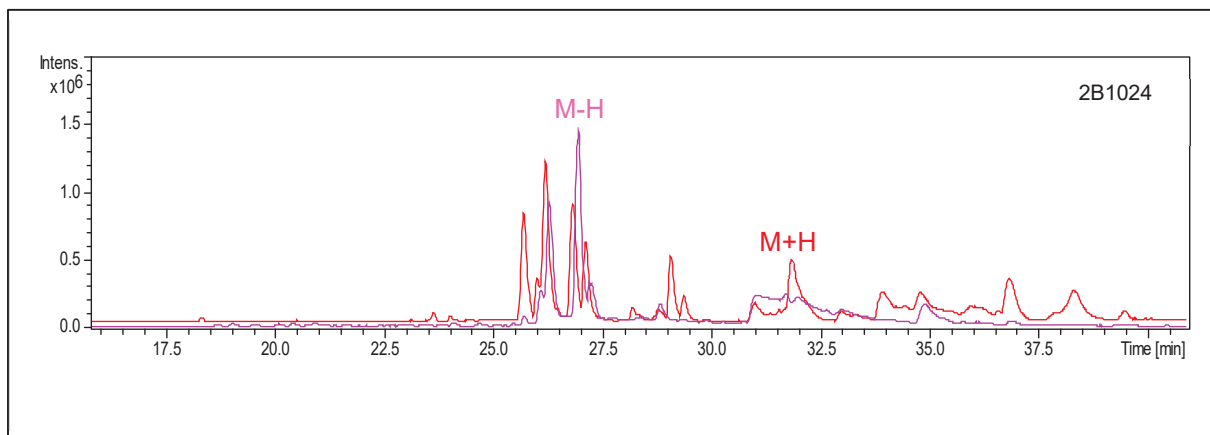
5.2.4 Perfil químico das própolis de *T. angustula* da MC

A Figura 24 ilustra o cromatograma (LC/MS) representativo da amostra 2B1024 de extratos de própolis/geoprópolis da espécie jataí da microrregião de Curitiba, em que é possível observar a separação dos diferentes compostos presentes nos extratos ao longo dos tempos de retenção. A Figura 25 representa o cromatograma LC-MS e os dados de fragmentação obtidos por LC-MS/MS para a amostra 2B1024. Para assegurar a cobertura abrangente dos compostos, a aquisição dos dados de MS/MS foi realizada nos modos de ionização positivo e negativo, o que assegura uma avaliação estrutural completa, uma vez que permite a detecção e fragmentação de compostos mais polares e mais apolares.

Os picos cromatográficos da amostra 2B1024 foram submetidos à identificação tentativa, realizada por meio da comparação dos dados de massas e fragmentações (LC-MS/MS). Os compostos tentativamente identificados no modo de

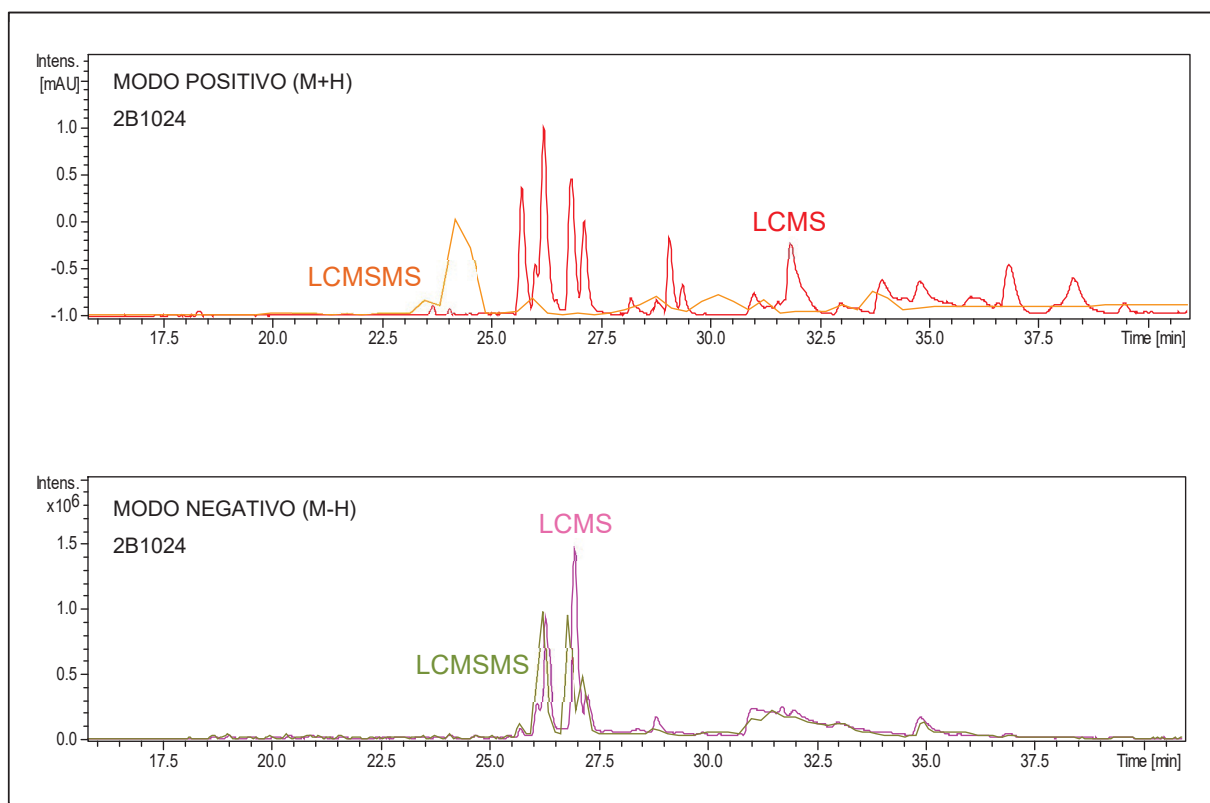
ionização positivo [M+H] encontram-se indicados na Tabela 7, e no modo de ionização negativo [M-H] na tabela 8.

FIGURA 24 – CROMATOGRAMA (LC-MS) DO EEP NOS MODOS POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA PRÓPOLIS DA ESPÉCIE *T. angustula* (2B1024)



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 25 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA PRÓPOLIS DA ESPÉCIE *T. angustula* (2B1024)



FONTE: A autora (2025).

TABELA 7 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO POSITIVO [M+H] DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS (*T. angustula*) DA MC

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M+H	301,2091	17,1 – 36,2	C ₂₀ H ₂₈ O	299; 227; 205	Álcool Diterpênico (Di- hidrocanferida)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	311,2007	28,8	C ₂₀ H ₂₆ O ₂	298	Ácido Diterpênico	(Bankova; Popova; Trusheva, 2014)
M+H	319,2310	26,1	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	257; 267	Éster Diterpênico (Ácido Cupressico / Isocupressico)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	325,2855	34,4 – 34,6	C ₂₄ H ₃₆ O	183; 182	Diterpeno Conjugado (C24)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	347,2276	29,3	C ₂₃ H ₃₀ O ₂	299	Diterpeno Acetilado	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M+H	363,2496	30,6 – 32,0	C ₂₄ H ₃₄ O ₂	319; 301	Éster Diterpênico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	369,2062	31,1 – 35,5	C ₂₃ H ₂₈ O ₄	301	Ácido Fenólico - Diterpênico	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M+H	383,2613	30,6 – 30,9	C ₂₆ H ₃₄ O	319; 127	Triterpeno / Éster (C26)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M+H	387,2147	26,2 – 29,9	C ₂₅ H ₃₀ O ₃	319	Éster de Ácido Fenólico - Diterpeno	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015)
M+H	453,3391	34,8 – 35,2	C ₃₁ H ₄₄ O ₂	409; 171	Ácido Triterpênico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	521,3294	34,7 – 35,9	C ₃₄ H ₄₄ O ₅	455; 453; 333	Éster Triterpênico Complexo	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	625,4337	31,0 – 33,5	C ₄₂ H ₅₆ O ₄	301	Diterpeno Dimerizado (C40+)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	661,4591	26,1 – 28,2	C ₄₄ H ₆₀ O ₅	319; 320; 321	Poliprenol Oxidado	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M+H	811,5642	26,9 – 27,1	C ₅₅ H ₇₆ O ₃	405; 322	Poliprenol Dimerizado (C55)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)
M+H	949,6793	31,2 – 31,4	C ₆₄ H ₉₀ O ₅	625; 301	Poliprenol / Politerpeno (C64)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Velikova <i>et al.</i> , 2000)

FONTE: A autora (2025).

TABELA 8 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO NEGATIVO [M-H] DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS (*T. angustula*) DA MC

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M-H	299,2035	27,2 – 30,7	C ₂₀ H ₂₈ O	227	Álcool Diterpênico (R-OH)	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M-H	315,1960	26,1 – 29,2	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	257; 282; 298; 254	Ácido Diterpênico Livre	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M-H	361,2390	29,2	C ₂₃ H ₃₄ O ₂	284	Ácido Diterpênico Alifático	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M-H	363,2496	30,6 – 32,0	C ₂₄ H ₃₆ O ₂	319; 301	Ácido Diterpênico (C24)	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015)
M-H	411,1959	32,1 – 33,8	C ₂₅ H ₃₂ O ₅	315; 271	Éster de Ácido Fenólico	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M-H	453,3391	34,8 – 35,2	C ₃₀ H ₄₆ O ₂	409; 171	Ácido Triterpênico Livre	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M-H	525,3200	30,6 – 34,7	C ₃₄ H ₄₂ O ₆	455; 453; 333	Éster de Triterpeno / Poliprenol	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M-H	605,3915	24,1	C ₄₀ H ₅₄ O ₄	291	Ácido Poliprenóico (C40)	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M-H	661,4591	26,1 – 28,2	C ₄₄ H ₆₂ O ₅	319; 320; 321	Poliprenol Oxidado	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015;

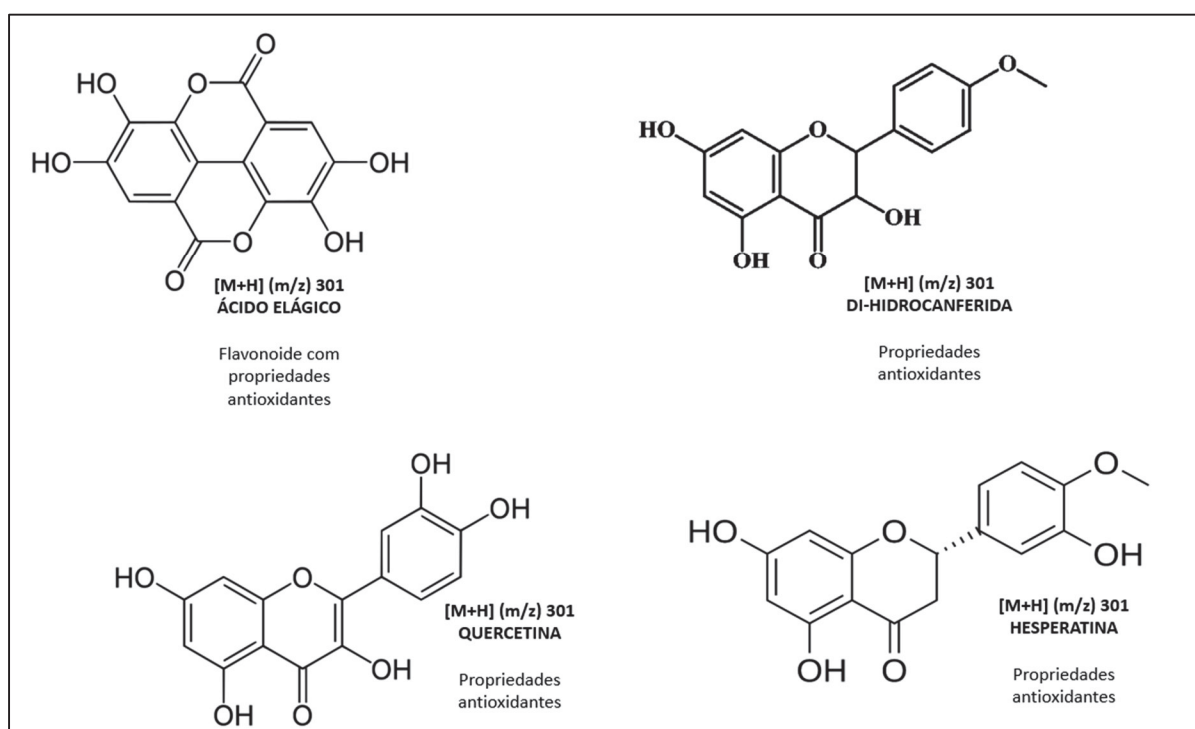
continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
						Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M-H	929,7199	34,9 – 35,0	C ₆₄ H ₉₆ O ₄	453	Poliprenol Conjugado Complexo	(Bankova <i>et al.</i> 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)

FONTE: A autora (2025).

A Figura 26 ilustra sugestões de fórmulas estruturais atribuídas a alguns dos compostos identificados no perfil químico da própolis da espécie *T. angustula*.

FIGURA 26 – SUGESTÕES DE FÓRMULAS ESTRUTURAIS DE ÍONS (M/Z) IDENTIFICADOS NO PERFIL QUÍMICO DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *T. angustula*



FONTE: A autora (2025).

A análise da própolis da espécie jataí, tal qual ocorre com as geoprópolis da espécie mandaçaia avaliadas nesse estudo, revela o perfil químico terpênico e lipofílico, característico das resinas coletadas por abelhas sem ferrão no Brasil, distinto

do perfil fenólico da própolis europeia (*Apis mellifera*) (Park *et al.*, 1998). Na matriz da própolis da espécie jataí predominam os diterpenoides, os triterpenoides, os ésteres e os poliprenoides em variados graus de oxigenação e conjugação (Bankova *et al.*, 2019; Feitosa *et al.*, 2025).

No modo de ionização negativo, o pico de massa precursor m/z 605,3915 e seu principal fragmento em 291,1967, é sugestivo para o quimiotipo de geoprópolis de abelhas nativas (Meliponinae), particularmente associado ao perfil da Jataí (*Tetragonisca angustula*) (Cardozo *et al.*, 2015). As massas de alto peso molecular frequentemente correspondem a glicosídeos de flavonoides ou terpenoides complexos. Os estudos de Cardozo *et al.* (2015) demonstram que o íon m/z 605 é um dos compostos que contribui significativamente para a diferenciação das amostras de própolis/geoprópolis da espécie de abelha jataí em análises estatísticas multivariadas. A rutina é um flavonoide glicosídeo bem conhecido, cuja massa identificada é de 609,1450. A massa do íon precursor (605) sugere a identificação de um glicosídeo estruturalmente relacionado ou um triterpeno com massa neutra de 606 Da (Cardozo *et al.*, 2015). Outra comprovação, é a perda neutra observada de aproximadamente 314 Da (605 – 291) bem característica da clivagem de uma ou mais porções de açúcares ligadas à aglicona (o fragmento 291), indicando que o íon original indica mesmo um glicosídeo fenólico ou terpenoide.

Quanto aos diterpenoides e ácidos carboxílicos, a predominância dos ácidos terpênicos e da di-hidrocanferida m/z 301, um dos íons mais abundantes nas própolis/geoprópolis da região sul do país, sugere como fonte vegetal de resina para a amostra a *Schinus terebinthifolius* (aroeira-vermelha), que é uma fonte vegetal importante para a geoprópolis de Jataí. Já o íon m/z 315,1960 (C₂₀H₂₈O₂) no modo de ionização negativo indica a forma Ácida Diterpênica Livre. A presença de um fragmento m/z 319 [M-H] decorrente da clivagem do íon m/z 363,2496 indica a perda CO₂ (44 Da) do grupo carboxílico, confirmando a natureza ácida do composto e sua detecção no modo negativo (Bankova *et al.*, 2019).

Ademais, os perfis de massa em ambos os modos de ionização também confirmam a estrutura terpênica da matriz. Os fragmentos proeminentes de m/z 319 e m/z 301 foram observados em vários precursores, o que demonstra que os compostos mais complexos clivam para formar os metabólitos regionais mais abundantes, como os ácidos cuprêssicos e a di-hidrocanferida (Cardozo *et al.*, 2015).

Os triterpenoides são detectados na faixa m/z 450, como o íon m/z 453,3391 [M-H], que fragmenta para m/z 409 validando a presença de Ácidos Triterpênicos Livres (Cardozo *et al.*, 2015; Feitosa *et al.*, 2025). A ampla faixa de tempo de retenção observada em alguns íons sugere a coeluição de isômeros ou ésteres homólogos do esqueleto diterpênico/fenólico, um reflexo da alta variabilidade e processamento da própolis/geoprópolis (Cardozo *et al.*, 2015).

A análise integrada dos dados de LC-MS e os dados de análise da fração volátil da própolis da espécie de abelha jataí demonstram que a matriz química das própolis de *T. angustula* é dual. Enquanto Santos (2023), utilizando GC-MS, demonstra a presença dominante de ésteres de ácidos graxos, aldeídos e hidrocarbonetos alifáticos na fração volátil, os dados dos extratos, focados na fração não volátil indicam que o esqueleto estrutural da própolis é terpênico. Isso é evidenciado pela prevalência de íons de baixa volatilidade como os Diterpenoides m/z 301,2197 [M+H]; Ácidos Triterpênicos m/z 453,3391 [M-H] e, principalmente, Poliprenoides de alta massa m/z 605,3915 [M-H]. A complementaridade dos perfis voláteis alifáticos e não voláteis terpênicos confirma a complexidade da própolis da espécie jataí (Bankova *et al.*, 2019; Cardozo *et al.*, 2015; Feitosa *et al.*, 2025).

No que tange às propriedades biológicas, a relevante presença de derivados fenólicos complexos, como os sugeridos pelo íon 605, está diretamente correlacionada com a capacidade antioxidante do extrato, uma vez que os compostos fenólicos interceptam radicais livres através da doação de hidrogênio de suas hidroxilas (Cardozo *et al.*, 2015).

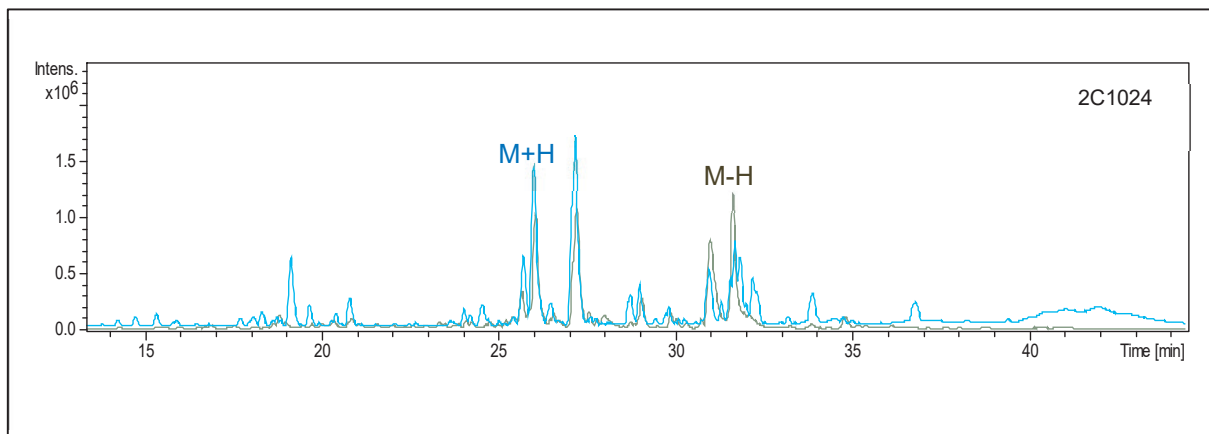
5.2.5 Perfil químico das própolis de *M. marginata* da MC

A Figura 27 ilustra o cromatograma (LC/MS) representativo da amostra 2C1024 de extratos de própolis da espécie manduri da microrregião de Curitiba, em que é possível observar a separação dos diferentes compostos presentes nos extratos ao longo dos tempos de retenção.

A Figura 28 demonstra o cromatograma LC-MS e os dados de fragmentação obtidos por LC-MS/MS para a amostra 2C1024. Para assegurar a cobertura abrangente dos compostos, a aquisição dos dados de MS/MS foi realizada nos modos de ionização positivo e negativo, o que assegura uma avaliação estrutural completa,

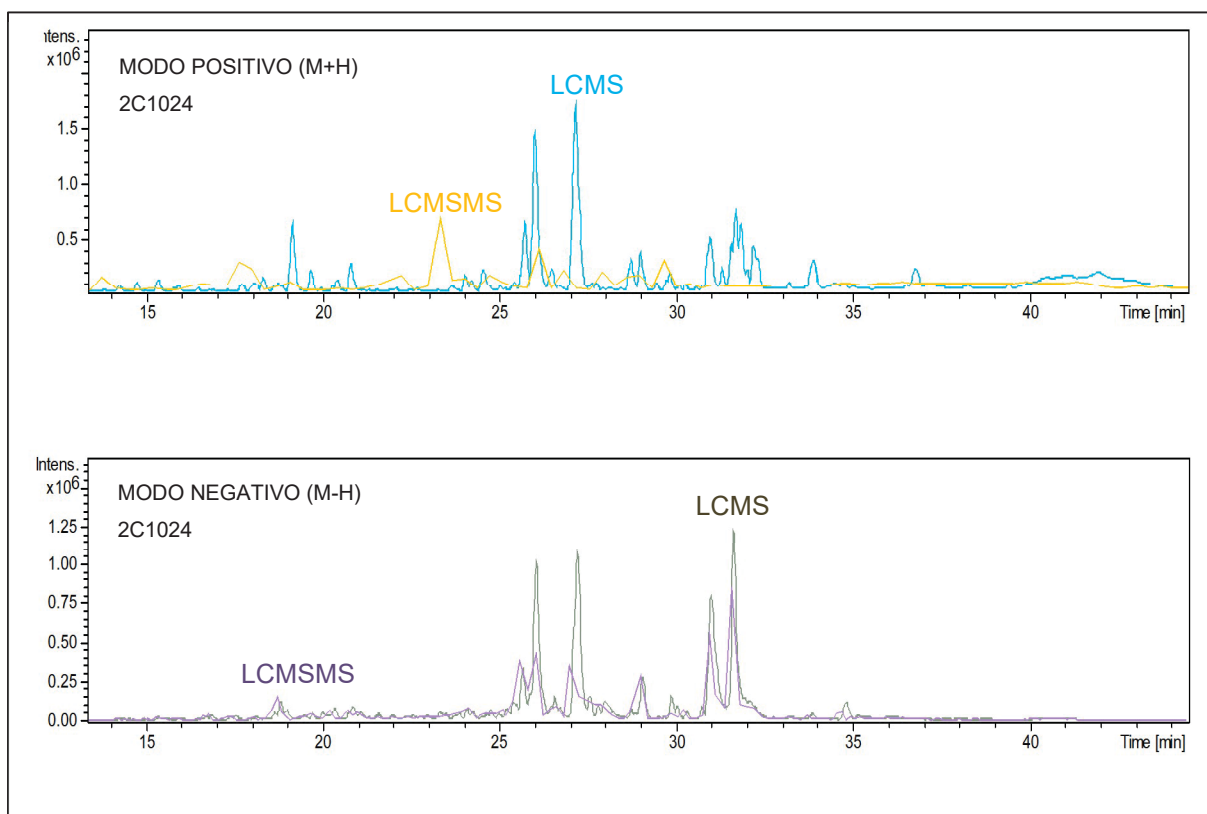
uma vez que permite a detecção e fragmentação de compostos mais polares e mais apolares.

FIGURA 27 – CROMATOGRAMA (LC-MS) DO EEP NOS MODOS POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DAS PRÓPOLIS DA ESPÉCIE *M. marginata* (2C1024)



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 28 – CROMATOGRAMA LC/MS E RESPECTIVO LC-MSMS DO EEP NO MODO DE IONIZAÇÃO POSITIVO [M+H] E NEGATIVO [M-H] DA PRÓPOLIS 2C1024



FONTE: A autora (2025).

Os picos cromatográficos da amostra 2C1024 foram submetidos à identificação tentativa, realizada por meio da comparação dos dados de massas e fragmentações (LC-MS/MS), com as informações disponíveis na literatura científica especializada e nos bancos de dados públicos como MassBank e Pubchem. Os compostos tentativamente identificados no modo de ionização positivo [M+H] encontram-se indicados na Tabela 9, e no modo de ionização negativo [M-H] na tabela 10.

TABELA 9 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO POSITIVO [M+H] DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS (*M. marginata*) DA MC

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M+H	271,2388	28,9	C ₁₇ H ₂₆ O ₂ (Estimado)	163	Terpenoide / Derivado Fenólico	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	285,2245	26,2 – 28,4	C ₁₉ H ₂₄ O ₂	159; 201	Norditerpeno / Derivado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025).
M+H	299,2035	22,3 – 25,2	C ₂₀ H ₂₆ O ₂	145; 197; 284	Diterpeno Desidrogenado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	301,2181	23,4 – 25,5	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	255; 259; 199	Ácido Diterpênico (ex: Ácido Isopimárico / caurenóico)	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	303,2344	23,8	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	255; 159	Ácido Diterpênico (ex: Ácido	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> ,

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
					Abiético/ Labdano)	2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025)
M+H	317,2126	23,8 – 24,5	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	299; 271; 255	Ácido Diterpênico Hidroxilado	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Parreiras, 2025)
M+H	319,2278	23,0	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	255; 199	Ácido Diterpênico Hidroxilado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	441,3591	30,0 – 30,4	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	287; 235	Triterpeno / Derivado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	601,4256	25,4	C ₄₀ H ₅₆ O ₄	301; 257	Dímero de Diterpeno (301+301)	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	605,4650	23,9	C ₄₀ H ₆₀ O ₄	303; 257	Dímero de Diterpeno (303+303)	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	621,4583	24,2	C ₄₀ H ₆₀ O ₅	315; 301	Dímero Misto (303+319)	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	623,4740	23,9	C ₄₀ H ₆₂ O ₅	303; 257	Dímero Misto / Hidroxilado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Parreiras, 2025)

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M+H	625,4069	26,6	C ₄₂ H ₅₆ O ₄	257; 201	Dímero Metilado / Etilado	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Parreiras, 2025)
M+H	645,4226	23,3	C ₄₂ H ₆₀ O ₅	341	Éster de Dímero	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	655,4114	22,4 – 26,1	C ₄₃ H ₆₀ O ₅	339; 299	Dímero Complexo	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	661,4606	23,8	C ₄₄ H ₆₂ O ₅	342; 301	Dímero com Cadeia Alifática	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M+H	971,7232	25,2	--	655; 339	Trímero de Diterpeno	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)

FONTE: A autora (2025).

TABELA 10 – PRINCIPAIS ÍONS IDENTIFICADOS POR HPLC/MS NO MODO NEGATIVO [M-H] DA AMOSTRA DE PRÓPOLIS (*M. marginata*) DA MC

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M-H	299,2020	27,1 – 29,4	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	227	Ácido Diterpênico	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car-

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
					(Ex: Ácido Isopimárico)	dozo <i>et al.</i> , 2015)
M-H	301,2212	31,0	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	205	Ácido Diterpênico Saturado (Ex: Ácido Dihidropimá- rico)	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	315,1978	25,1 – 26,7	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	298; 254; 201	Ácido Diterpênico Hidroxilado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	317,2128	28,2	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	298	Ácido Diterpênico Hidroxilado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	345,2087	26,7 – 31,2	C ₂₂ H ₃₄ O ₃	301; 315	Éster Etilíco / Metílico de Ácido Diterpê- nico	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	361,2395	27,0 – 28,6	C ₂₃ H ₃₄ O ₂	317; 269	Diterpeno Alifático / Éster	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	363,2517	25,5 – 27,8	C ₂₄ H ₃₆ O ₂	319; 317	Ácido Diterpênico (C24)	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)

continua

MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
M-H	409,1814	30,3	C ₂₅ H ₃₀ O ₅	299	Éster de Ácido Fenólico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Parreiras, 2025)
M-H	411,1980	31,1 – 31,8	C ₂₅ H ₃₂ O ₅	315; 301	Éster de Ácido Fenólico	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	525,3283	31,5 – 32,7	C ₃₄ H ₄₆ O ₄	411; 453; 333	Éster Triterpênico / Diterpênico	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	625,4329	31,0 – 31,9	C ₄₂ H ₅₈ O ₄	301	Dímero de Ácido Diterpênico	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	635,4406	27,2 – 30,2	C ₄₂ H ₆₀ O ₄	301; 299	Dímero de Ácido Diterpênico (317+317)	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	637,4541	30,6 – 32,0	C ₄₂ H ₆₂ O ₄	301; 317; 335	Dímero de Ácido Diterpênico	(Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Parreiras, 2025)
M-H	641,4173	31,1 – 31,6	C ₄₂ H ₅₈ O ₅	301	Dímero Oxidado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	661,4591	26,1 – 26,7	C ₄₄ H ₆₂ O ₅	319; 315	Dímero de Ácido Diterpênico	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Cardozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa

continua

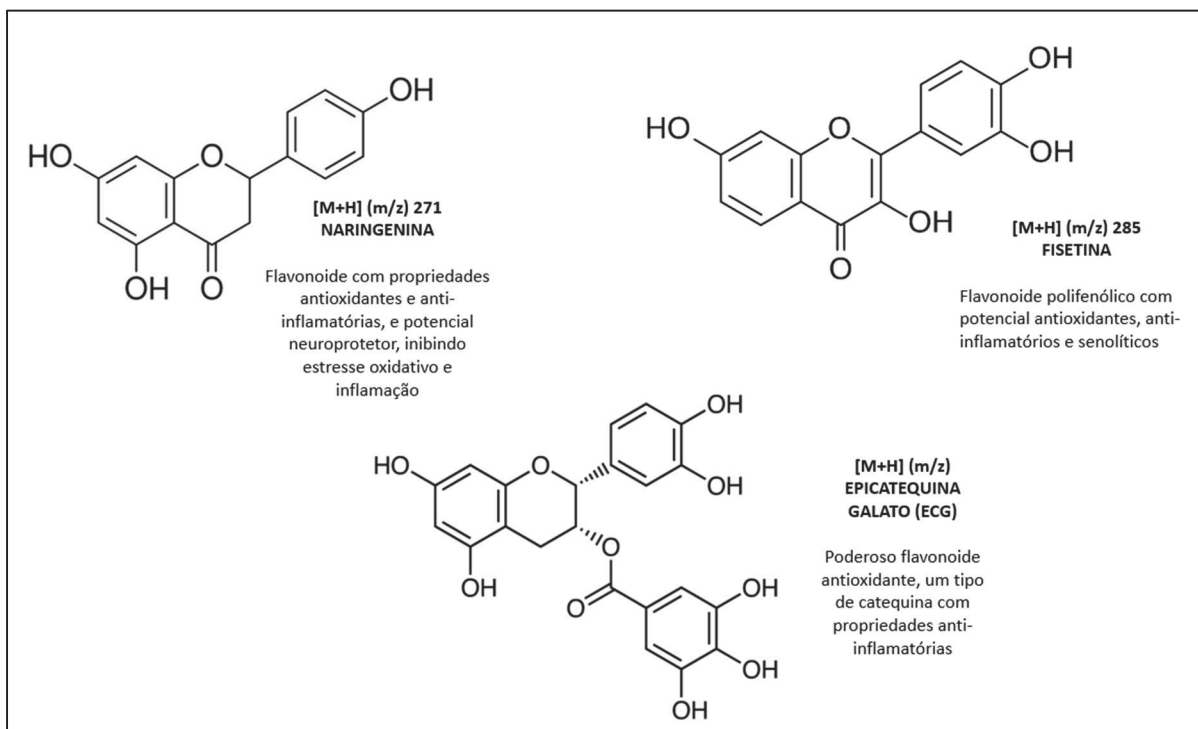
MODO	M+ (M/Z)	TR (MIN)	FÓRMULA MONOISOTÓPICA MAIS PROVÁVEL	FRAGMENTOS CHAVE (MS/MS)	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA CHAVE
						<i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	703,4502	26,2 – 27,2	C ₄₆ H ₆₄ O ₅	319; 363	Dímero Complexo / Conjugado	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	745,4883	29,0	-	361; 301	Dímero / Trímero	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)
M-H	949,6834	31,0 – 31,6	C ₆₄ H ₉₄ O ₄	301	Trímero de Ácido Diterpênico	(Bankova <i>et al.</i> , 2014; Car- dozo <i>et al.</i> , 2015; Feitosa <i>et al.</i> , 2025; Parreiras, 2025)

FONTE: A autora (2025).

A Figura 29 ilustra sugestões de fórmulas estruturais atribuídas a alguns dos compostos identificados no perfil químico da própolis da espécie *M. marginata*.

A análise cromatográfica revela que a própolis da espécie manduri (*Melipina marginata*) também dispõe de quimiotipo predominantemente diterpênico ácido, tal como observado para as amostras de geoprópolis da espécie mandaçaia e própolis da espécie jataí da microrregião de Curitiba, contudo com dominância de ácidos terpênicos em uma matriz química de baixa polaridade e alto peso molecular (Cardozo *et al.*, 2015; Feitosa *et al.*, 2025).

FIGURA 29 – SUGESTÕES DE FÓRMULAS ESTRUTURAIS DE ÍONS (M/Z) IDENTIFICADOS NO PERFIL QUÍMICO DA GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE *M. marginata*



FONTE: A autora (2025).

A fração ácida é confirmada no modo de ionização negativo [M-H] em que os íons desprotonados dominam o espectro na região de m/z 299 a 317. Os picos de m/z 299,20 m/z 301,22 indicam ácidos diterpênicos livres, como o ácido isopimárico e isômeros. O íon m/z 301 (di-hidrocanferida / ácidos comúnicos) e o m/z 319 (ácidos cuprêssicos), são frequentemente observados como fragmentos de íons precursores maiores (por exemplo, m/z 363 e m/z 661) (Cardozo *et al.*, 2015). Bankova *et al.* (2014) classifica essa matriz química rica em diterpenoides, como o labdano e pimarano, e valida que o modo de ionização negativo é o que define o *fingerprint* de ácidos carboxílicos em própolis de *Melipona*.

A distinção da amostra da espécie manduri foi marcada pela detecção de um íon de peso molecular elevado, m/z 525,3283 [M-H]. Este metabólito se alinha proximamente com o íon m/z 521, previamente identificado como um dos marcadores químicos mais importantes para a espécie em estudos realizados no Paraná. Contudo, é importante ressaltar que a presença deste íon m/z 521 não é exclusiva da espécie *M. marginata*, embora atue como um marcador quimiotaxonômico de alta relevância, corroborando que a espécie de abelha é um dos principais fatores para a distinção química das própolis/geoprópolis (Cardozo *et al.*, 2015; Velikova *et al.*, 2000).

Segundo Cardozo *et al.* (2015), em seus estudos sobre a variabilidade química da geoprópolis brasileira, a própolis da espécie manduri é qualificada justamente pelo seu alto teor em ácidos diterpênicos (massa molecular entre 300 e 318), enquanto a própolis da espécie jataí se concentra em classes químicas diferentes. Os picos desprotonados (como m/z 315 e 317) e protonados (como m/z 301,21) remetem à marcadores quimiotaxonômicos que diferenciam a própolis de manduri dentro do grupo das abelhas nativas.

Uma evidência da complexidade da matriz é a detecção de uma série de compostos de elevado peso molecular, notavelmente m/z 971,7232 [M+H] e m/z 949,6834 [M-H], que fragmentam consistentemente para m/z 301 e m/z 319. Esses íons corroboram que a própolis de manduri é rica em triterpenos ou oligômeros terpênicos. A espécie manduri tende a apresentar maiores teores de fenóis totais, e a presença desses complexos de alta massa, possivelmente glicosilados ou acilados, contribui para este quantitativo superior (Parreiras, 2025).

A ocorrência de íons (m/z 271 e m/z 285 em M+H) que fragmentam para m/z 163 sugerem a presença de derivados do ácido cumárico, o que é coerente com a observação na literatura de uma banda de absorção UV fraca (304 – 314 nm) exclusiva da geoprópolis de manduri, indicativa de baixos teores de fenilpropanoides. Essa característica, embora em baixa concentração, pode estar ligada à seletividade da espécie que contribui para sua relevância fenólica em relação a outras espécies estudadas na região (Cardozo *et al.*, 2015; Parreiras, 2025).

Outra característica distintiva das própolis de abelhas manduri é a formação de estruturas oligoméricas. Em ambos os modos de ionização há uma série de íons de alta massa (m/z 580 a 971), com destaque para dímeros (C₄₀), como os íons [M+H] m/z 601,42 m/z 625,43, e trímeros (como o íon m/z 949 no modo negativo). A clivagem destes íons de alta massa molecular para os monômeros de diterpeno (m/z 301/303) evidencia que o esqueleto da própolis integra múltiplas unidades de diterpenoides que se agregaram ou polimerizaram (Cardozo *et al.*, 2015).

Assim, a ASF *M. marginata* apresenta a matriz terpênic e ácida observada nas geoprópolis de abelhas mandaçaia e jataí, mas com a inclusão de metabólitos complexos de alto peso molecular (m/z 525, 949), que atuam como marcadores específicos da espécie (*M. marginata*), que confirmam a alta seletividade de recursos florais de resinas (Cardozo *et al.*, 2015; Parreiras, 2025; Silva *et al.*, 2016).

5.2.6 Toxicidade aguda do EEP e FDi da própolis/geoprópolis da MC

As dosagens testadas (40, 200 e 400 mg/kg) dos EEP de própolis das espécies mandaçaia e jataí não foram tóxicas para *zebrafish* adulto, até 96h de observação ($DL_{50} > 400$ mg/kg), pois não houve quantitativo de morte significativo e nenhuma alteração anatômica aparente nos animais durante este período ($p > 0,05$).

De igual forma, as frações de diclorometano das própolis e geoprópolis das abelhas mandaçaia, jataí e manduri não apresentaram toxicidade aguda para *zebrafish* adulto, até 96h de análise ($DL_{50} > 400$ mg/kg), dado que, de igual forma ao observado com os extratos, não houve um quantitativo de morte significativo e nenhuma alteração anatômica aparente nos animais durante este período ($p > 0,05$).

O delineamento experimental para observação da toxicidade aguda segue ilustrada na Figura 30 e os índices de mortalidade para cada dosagem administrada estão indicados na Tabela 11.

FIGURA 30 – OBSERVAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DAS AMOSTRAS EM *ZEBRAFISH*



FONTE: A autora (2025).

TABELA 11 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE EEP E FDI DE GEOPRÓPOLIS DE *M. quadrifasciata* DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA

Amostra	Mortalidade				96h
	CP	D1	D2	D3	DL ₅₀ (mg/kg) / IC
EEP1A0924R	0	0	0	0	>400
1A0924RFRDCL	0	0	0	0	>400
EEP2B1024	0	0	0	1	>400
2B1024FRDCL	0	1	0	0	>400
2CL024FRDCL	0	0	0	0	>400

FONTE: A autora (2025).

Legenda: EEP – Extrato Etanólico de Própolis; FRDCL – Fração de Diclorometano CP – Controle Positivo. D1 – Dose 1 (40 mg/kg). D2 – Dose 2 (200 mg/kg). D3 – Dose 3 (400 mg/kg). DL₅₀ - Dose letal para matar 50% dos *Zebrafish* adulto; IC – Intervalo de Confiança.

5.2.7 Toxicidade aguda do EEP e FDi da geoprópolis da RL

As dosagens testadas (4, 20 e 40 mg/kg) dos EEP de geoprópolis das abelhas mandaçaia não foram tóxicas para *zebrafish* adulto, até 96h de análise (DL₅₀ > 40 mg/kg), pois não houve um quantitativo de morte significativo e nenhuma alteração anatômica aparente nos animais durante este período ($p > 0,05$).

De igual forma, as FDi da geoprópolis das abelhas mandaçaia não apresentaram toxicidade aguda para *zebrafish* adulto, até 96h de análise (DL₅₀ > 40 mg/kg), dado que, de igual forma ao observado com os extratos, não houve um quantitativo de morte significativo e nenhuma alteração anatômica aparente nos animais durante este período ($p > 0,05$). Os resultados seguem na Tabela 12.

TABELA 12 – AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE EEP E FDI DE GEOPRÓPOLIS DE *M. quadrifasciata* DA REGIÃO DO LITORAL

Amostra	Mortalidade				96h
	CP	D1	D2	D3	DL ₅₀ (mg/kg) / IC
EEP7A1224EL	0	0	0	0	>40
EEP6A1224RR	0	0	1	0	>40
7A1224ELFRDCL	0	0	0	0	>40
6A1224RRFRDCL	0	0	0	0	>40

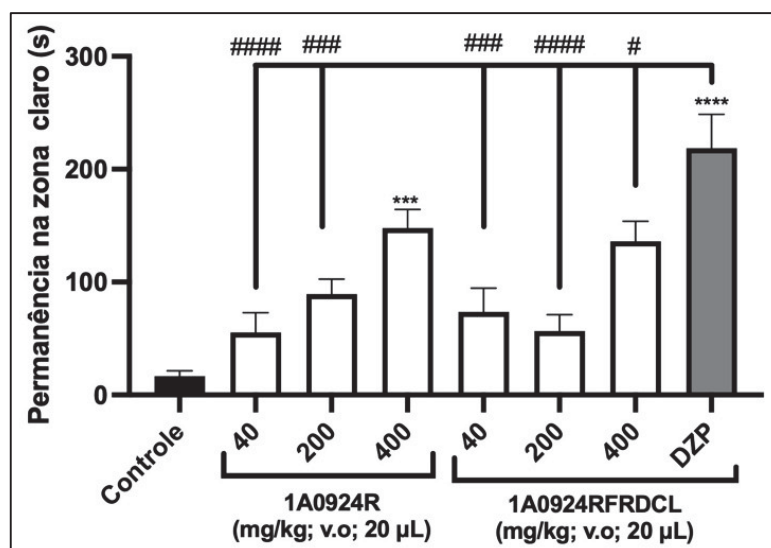
FONTE: A autora (2025).

Legenda: EEP – Extrato Etanólico de Própolis; FRDCL – Fração de Diclorometano CP – Controle Positivo. D1 – Dose 1 (40 mg/kg). D2 – Dose 2 (200 mg/kg). D3 – Dose 3 (400 mg/kg). DL₅₀ - Dose letal para matar 50% dos *Zebrafish* adulto; IC – Intervalo de Confiança.

5.2.8 Análise da ação ansiolítica e via de neuromodulação de EEP e FDi da própolis/geoprópolis da MC

Ao avaliar o efeito ansiolítico das amostras de extratos de própolis e geoprópolis das espécies mandacaiá e jataí, bem como das frações de diclorometano das espécies mandacaiá, jataí e manduri, foi possível constatar que apenas a FDi da geoprópolis da abelha mandacaiá (1A0924RFRDCL) não apresentou efeito ansiolítico estatisticamente significativo, conforme ilustrado na Figura 31. Para todas as demais amostras testadas foi constatado o efeito ansiolítico em peixes-zebra, com diferenças nas dosagens testadas para as espécies de ASF.

FIGURA 31 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE EEP E FDI DE GEOPRÓPOLIS (ESPÉCIE MANDAÇAIA) EM ZEBRAFISH ADULTO NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)



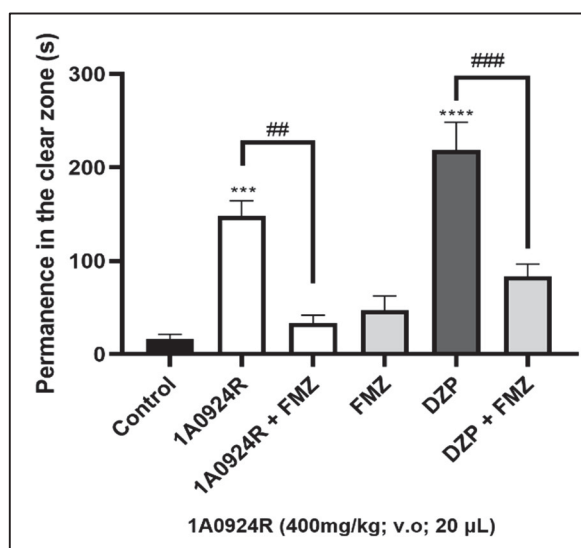
FONTE: A autora (2025).

As amostras de EEP da abelha mandacaiá (*M. quadrifasciata*) apresentaram efeito ansiolítico significativo na dose de 400 mg/kg (** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ vs. Controle), (### $p < 0,001$; #### $p < 0,0001$ vs. DZP). Esse resultado indica um maior tempo de permanência dos animais na região clara do aquário no teste do claro/escuro (Figura 31) demonstrando um efeito ansiolítico significativamente semelhante ao Diazepam (DZP; 4 mg/kg), controle positivo, no qual, se fez necessário avaliar o mecanismo de ação.

A avaliação do mecanismo de ansiedade via neurotransmissão GABAérgica foi executada por meio do pré-tratamento com flumazenil, seguida da administração da

dose efetiva do extrato de geoprópolis de abelhas mandaçaia (400 mg/kg) para a qual se observou o comportamento ansiolítico nos animais. Ao realizar o bloqueio da via GABA_A pelo antagonista flumazenil, a amostra teve o efeito ansiolítico reduzido (Figura 32), uma vez que os peixes passaram a maior parte do tempo de observação na região escura do aquário, o que evidencia o comportamento de ansiedade. Portanto, foi observado que o extrato de geoprópolis de abelhas mandaçaia (400 mg/kg) guarda relação com o receptor GABA_A (**p < 0,001; ****p < 0,0001 vs. Controle), (##p < 0,01 1A0924R vs. 1A0924R + FMZ), (###p < 0,001 DZP vs. DZP + FMZ), e atua na via de neuromodulação GABAérgica.

FIGURA 32 – EFEITO DO EEP DE GEOPRÓPOLIS DA ESPÉCIE MANDAÇAIA NA NEUROMODULAÇÃO GABAÉRGICA EM ZEBRAFISH NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)

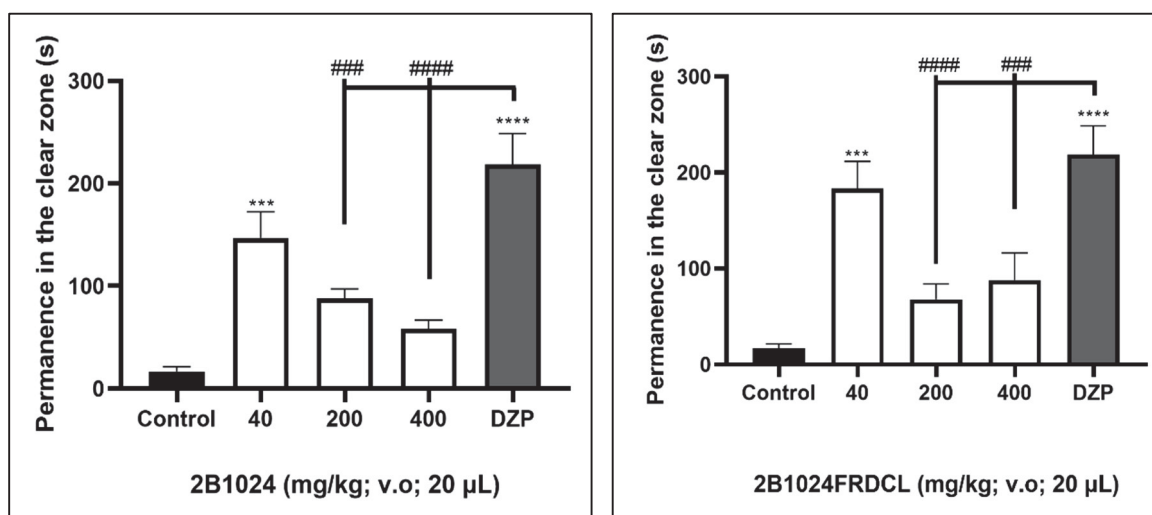


FONTE: A autora (2025).

Com relação à avaliação do efeito ansiolítico dos extratos de própolis (EEP2B1024) produzidos pelas abelhas jataí (*T. angustula*) e da sua respectiva fração de diclorometano (2B1024FRDCL) foi observada que apenas a menor dosagem testada, isto é, de 40 mg/kg, teve efeito ansiolítico significativo em *zebrafish* adulto (**p < 0,001; ****p < 0,0001 vs. Controle), (###p < 0,001; #####p < 0,0001 vs. DZP). Logo, esse resultado demonstra que os animais permaneceram a maior parte do tempo de observação na região clara do aquário no teste claro/escuro (Figura 33), e que, considerando análises de variância estatística, a ação ansiolítica nessa dosagem foi significativamente semelhante ao fármaco comercial Diazepam (DZP; 4 mg/kg), controle positivo, em que, fez-se necessário avaliar o mecanismo de ação.

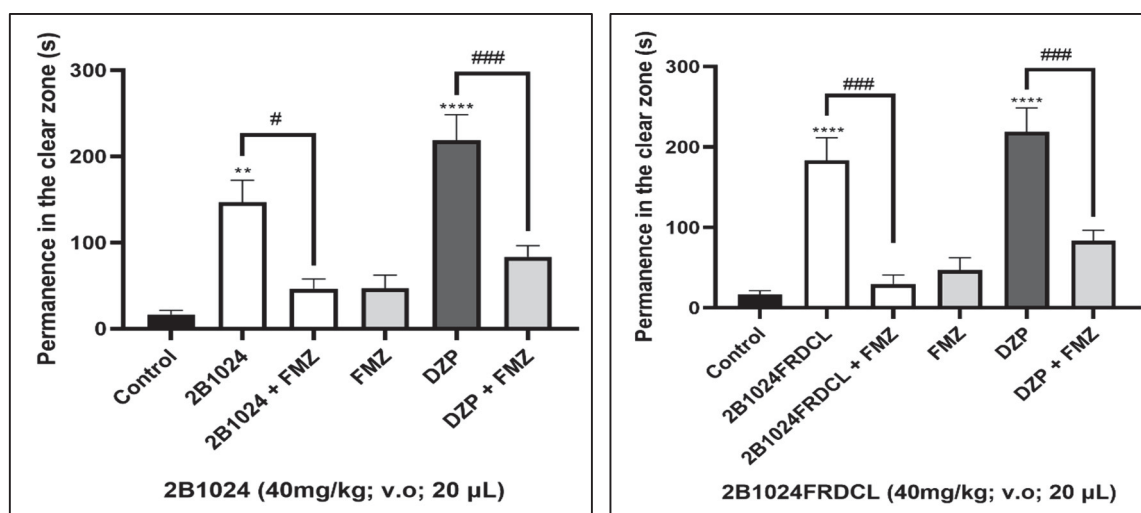
O teste com a dose efetiva do extrato 2B1024 e sua respectiva FDi (40 mg/kg), demonstrou que, ao realizar o bloqueio da via GABA_A, ambas as amostras tiveram seu efeito ansiolítico reduzido (Figura 34) pelo flumazenil, uma vez que os peixes passaram a maior parte do tempo na região escura do aquário, demonstrando comportamento de ansiedade, o que indica que o efeito ansiolítico da própolis de jataí possui relação com o receptor GABA_A, (**p < 0,01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001 vs. Controle), (##p < 0,01 2B1024 vs. 2B1024 + FMZ), (###p < 0,001 DZP vs. DZP + FMZ) e ativa a via de neuromodulação GABAérgica.

FIGURA 33 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE EEP E FDi DE PRÓPOLIS (ESPÉCIE JATAÍ) EM ZEBRAFISH NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)



FONTE: A autora (2025).

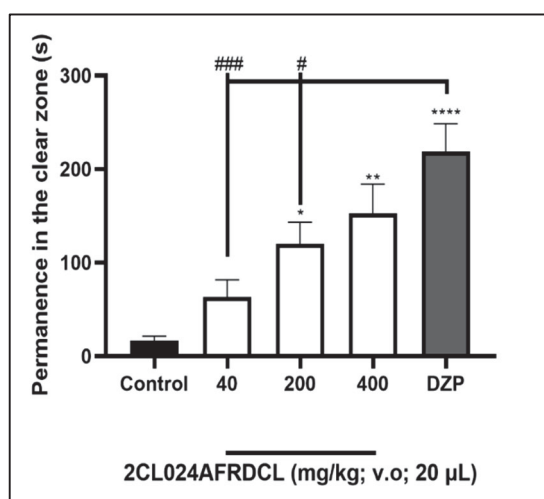
FIGURA 34 – EFEITO DO EEP E FDi DE PRÓPOLIS DA ESPÉCIE JATAÍ NA NEUROMODULAÇÃO GABAÉRGICA EM ZEBRAFISH NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)



FONTE: A autora (2025)

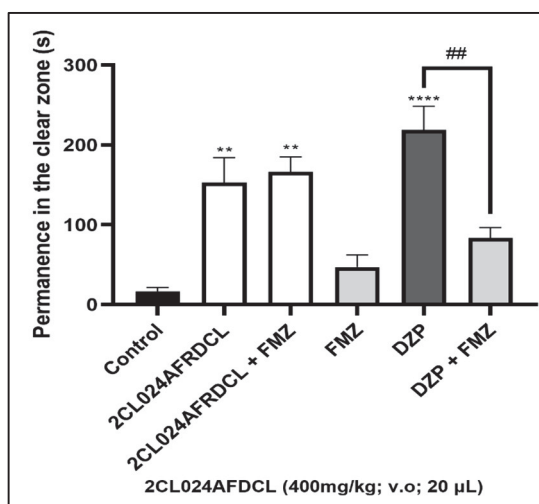
A avaliação do efeito ansiolítico da fração de diclorometano (FDi) de própolis (2CL1024FRDCL) produzidas pelas abelhas manduri demonstrou que, tal qual o observado nos extratos de abelhas mandaçaia, a dose ansiolítica efetiva foi de 400 mg/kg (** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ vs. Controle), (#### $p < 0,001$; ##### $p < 0,0001$ vs. DZP), o que demonstra maior tempo de permanência dos animais na região clara do aquário no teste claro/escuro (Figura 35) e também com efeito semelhante ao medicamento Diazepam (DZP; 4 mg/kg), controle positivo. A investigação do mecanismo de ação na via GABAérgica segue ilustrada na Figura 36.

FIGURA 35 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE FDi (MANDURI) EM ZEBRAFISH NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 36 – EFEITO DE FDi DE PRÓPOLIS DE MANDURI NA NEUROMODULAÇÃO GABAÉRGICA EM ZEBRAFISH NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)

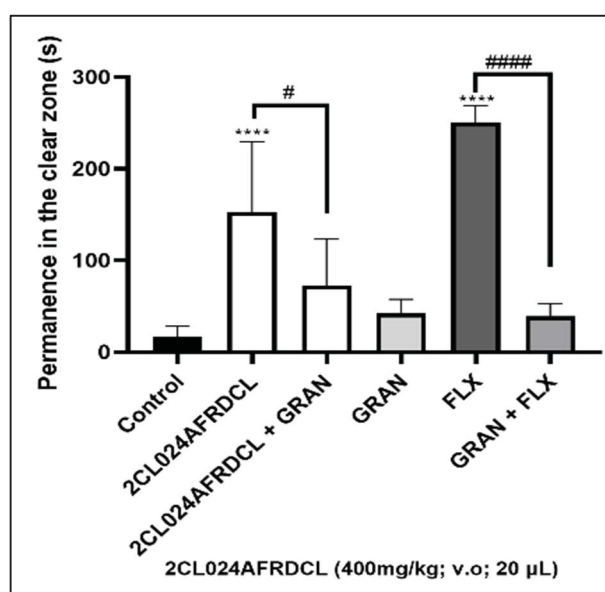


FONTE: A autora (2025).

A avaliação da via de neuromodulação da FDi (2CL1024FRDCL) considerou a administração da dosagem efetiva para o efeito ansiolítico (400 mg/kg), e na sequência foi conduzido novo teste do claro/escuro. Ao realizar o bloqueio do receptor GABA_A a amostra não teve efeito ansiolítico reduzido pelo antagonista flumazenil, uma vez que os peixes permaneceram a maior parte do tempo na região clara do aquário, indicando a manutenção do comportamento ansiolítico, como pode ser observada na Figura 36. Contrariamente, ao observado para as outras espécies de abelhas, esse resultado demonstrou que o efeito ansiolítico da FDi da própolis da manduri não ativa o receptor GABA_A (**p < 0,01; ****p < 0,0001 vs. Controle), (###p < 0,001 DZP vs. DZP + FMZ).

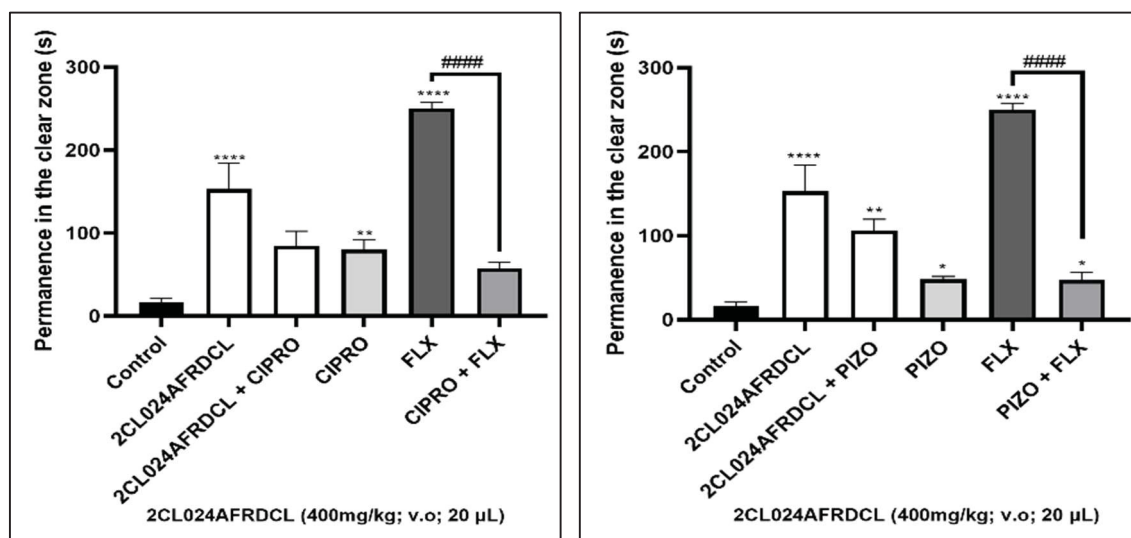
Considerando que a FDi de abelha manduri (2CL024FRDCL) não indicou relação com a via GABAérgica, avaliou-se sua possível atuação na neurotransmissão serotoninérgica. Para isso, foram realizados pré-tratamentos com os antagonistas ciproeptadina (5-HT_{2A}), pizotifeno (5-HT₁ e 5-HT_{2A/2C}) e granisetron (5-HT_{3A/3B}) (Benneh *et al.*, 2017). Os resultados do teste claro/escuro estão apresentados nas Figuras 37 e 38. Conforme a Figura 37, apenas o granisetron reduziu significativamente o efeito ansiolítico em peixe-zebra, indicando a ativação dos receptores 5-HT_{3A/3B} e, conseqüentemente, do sistema serotoninérgico.

FIGURA 37 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANSIOLÍTICO DE FDI DE PRÓPOLIS DE ABELHA MANDURI E A NEUROMODULAÇÃO SEROTONINÉRGICA EM ZEBRAFISH, COM PRÉ-TRATAMENTO COM GRANISETRON



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 38 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANSIOLÍTICO DE FDi DE PRÓPOLIS DE ABELHA MANDURI E A NEUROMODULAÇÃO SEROTONINÉRGICA EM ZEBRAFISH, COM PRÉ-TRATAMENTO COM CIPROEPTADINA E PIZOTIFENO



FONTE: A autora (2025).

A atividade ansiolítica observada nas amostras pode estar relacionada ao caráter ácido diterpênico presente nos perfis químicos das geoprópolis de mandaçaia, bem como das própolis de jataí e manduri. Diversos compostos da classe dos terpenos, especialmente aqueles com grupos funcionais ácidos, são reconhecidos por sua capacidade de modular o Sistema Nervoso Central. Nesse contexto, os terpenos e terpenoides constituem um amplo grupo de metabólitos secundários com múltiplas ações sobre o SNC, destacando-se suas atividades sedativa, ansiolítica e anticonvulsivante (Passos *et al.*, 2009).

Estudos propostos por Piccinini *et al.* (2022) confirmam a relevância dos diterpenoides como indicadores da bioatividade da própolis de *M. quadrifasciata*, destacando-se que esses compostos estão entre os constituintes mais ativos da geoprópolis de abelha mandaçaia.

O efeito ansiolítico demonstrado pelas amostras de geoprópolis de mandaçaia e pela própolis de jataí, observado por meio da ativação do receptor GABA_A na via de neuromodulação GABAérgica, pode também estar associado à presença de uma matriz diterpênica. Ao revisar a ação de terpenoides no SNC de vertebrados, Passos *et al.* (2009) destacam, por exemplo, o ácido valerênico, um sesquiterpeno ácido presente em *Valeriana officinalis*, como modulador alostérico positivo do receptor GABA_A, contribuindo para os efeitos ansiolíticos.

No caso da matriz diterpênica da própolis de manduri, também caracterizada pelo perfil ácido, observa-se a presença de metabólitos complexos de alto peso molecular (m/z 525 e 949), que atuam como marcadores específicos da espécie *M. marginata* (Cardozo *et al.*, 2015; Parreiras, 2025; Silva *et al.*, 2016). Essa particularidade pode sugerir a ativação do sistema de neuromodulação serotoninérgico, a exemplo do relatado nos estudos de Lima *et al.* (2022), em que diterpenos como a sonderianina exibem efeito ansiolítico em *Zebrafish* por meio da modulação do sistema 5-HT.

No que se refere às dosagens testadas, verificou-se que a própolis de jataí apresentou efeito ansiolítico apenas na menor dosagem avaliada (40 mg/kg). Esse resultado pode ser explicado pelo fenômeno da hormese, que descreve respostas biológicas em que doses baixas de um estímulo promovem efeitos benéficos, enquanto doses mais elevadas podem produzir respostas opostas, inibitórias ou até mesmo nocivas (Mattson, 2008). Tanto no EEP quanto na sua respectiva FDi, esse fenômeno justifica os resultados obtidos, uma vez que, em concentrações superiores a 40 mg/kg, notou-se o efeito adverso e contrário ao esperado, ou seja, os peixes permaneceram mais ansiosos, passando a maior parte do tempo na região escura do aquário.

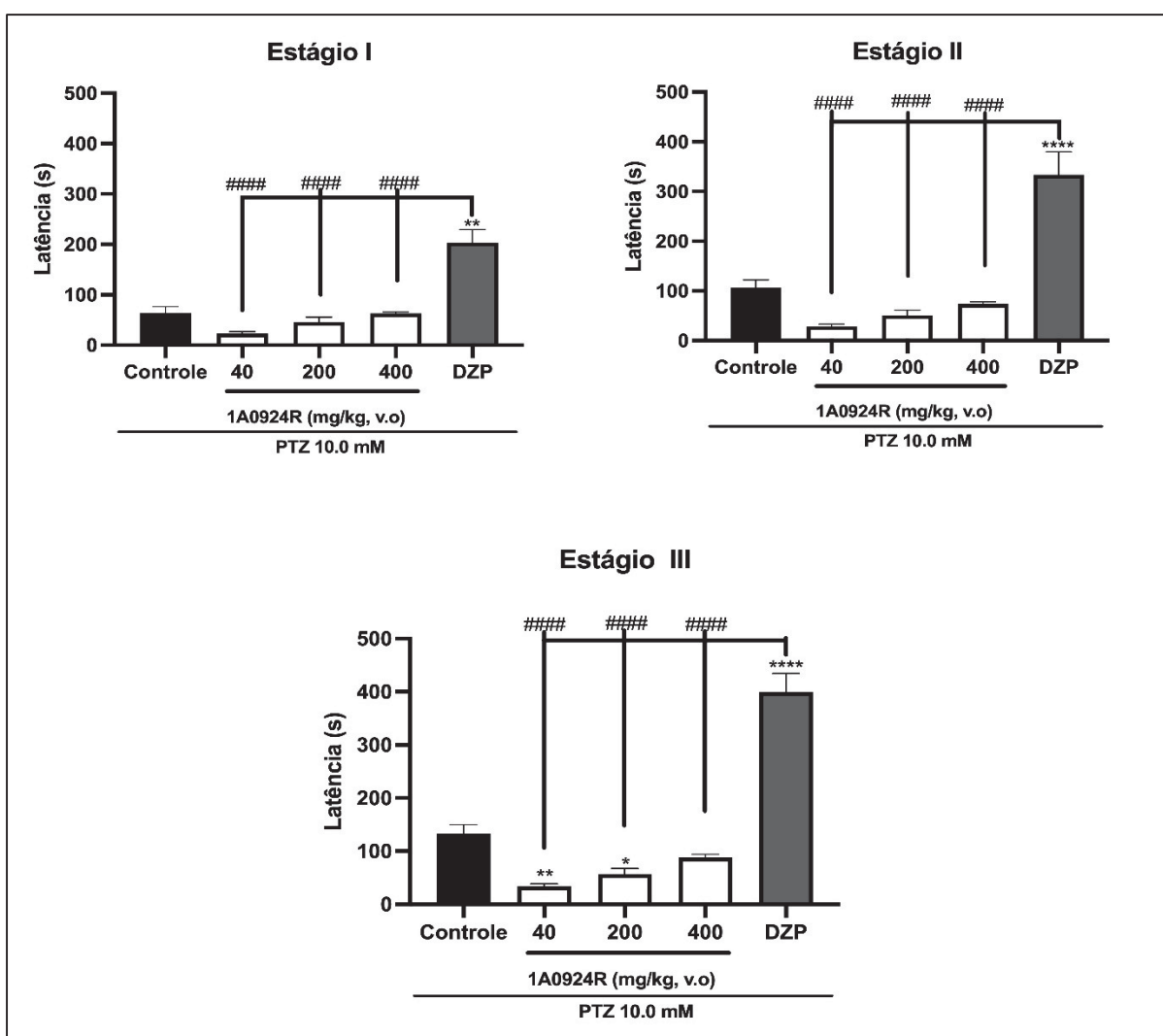
Os efeitos ansiolíticos observados estão em conformidade ao esperado para própolis e geoprópolis, uma vez que sua capacidade antioxidante também está associada à atividade ansiolítica. Essa relação é reforçada pela presença significativa de derivados fenólicos complexos, como o íon m/z 605 identificado por HPLC-MS no EEP da própolis de jataí, cuja estrutura sugere elevada capacidade de neutralizar radicais livres por meio da doação de hidrogênio de grupos hidroxila (Cardozo *et al.*, 2015).

Esses achados são relevantes, pois estudos prévios demonstram que o extrato oleoso de própolis exerce efeitos ansiolíticos e antidepressivos no sistema nervoso central de ratos, além de apresentar propriedades antioxidantes. Tais evidências sugerem que o OEP pode constituir um composto terapêutico promissor para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão. Nesse sentido, Reis *et al.* (2014), ao avaliar o potencial antioxidante de extratos oleosos de própolis, propõem que sua atividade antioxidante está diretamente relacionada aos efeitos ansiolíticos e antidepressivos observados, dada a similaridade dos mecanismos de ação no sistema nervoso central de ratos.

5.2.9 Análise da ação anticonvulsivante do EEP e FDi da própolis/geoprópolis da MC

A Figura 39 apresenta os resultados do teste anticonvulsivante conduzido em *zebrafish*, realizado com o EEP da amostra de geoprópolis da espécie mandaçaia, demonstrando o efeito nos estágios I, II e III das convulsões induzidas por PTZ. O teste foi conduzido apenas com o extrato, uma vez que a FDi não indicou efeito ansiolítico representativo.

FIGURA 39 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE EEP DE GEOPRÓPOLIS DE ABELHA MANDAÇAIA DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA



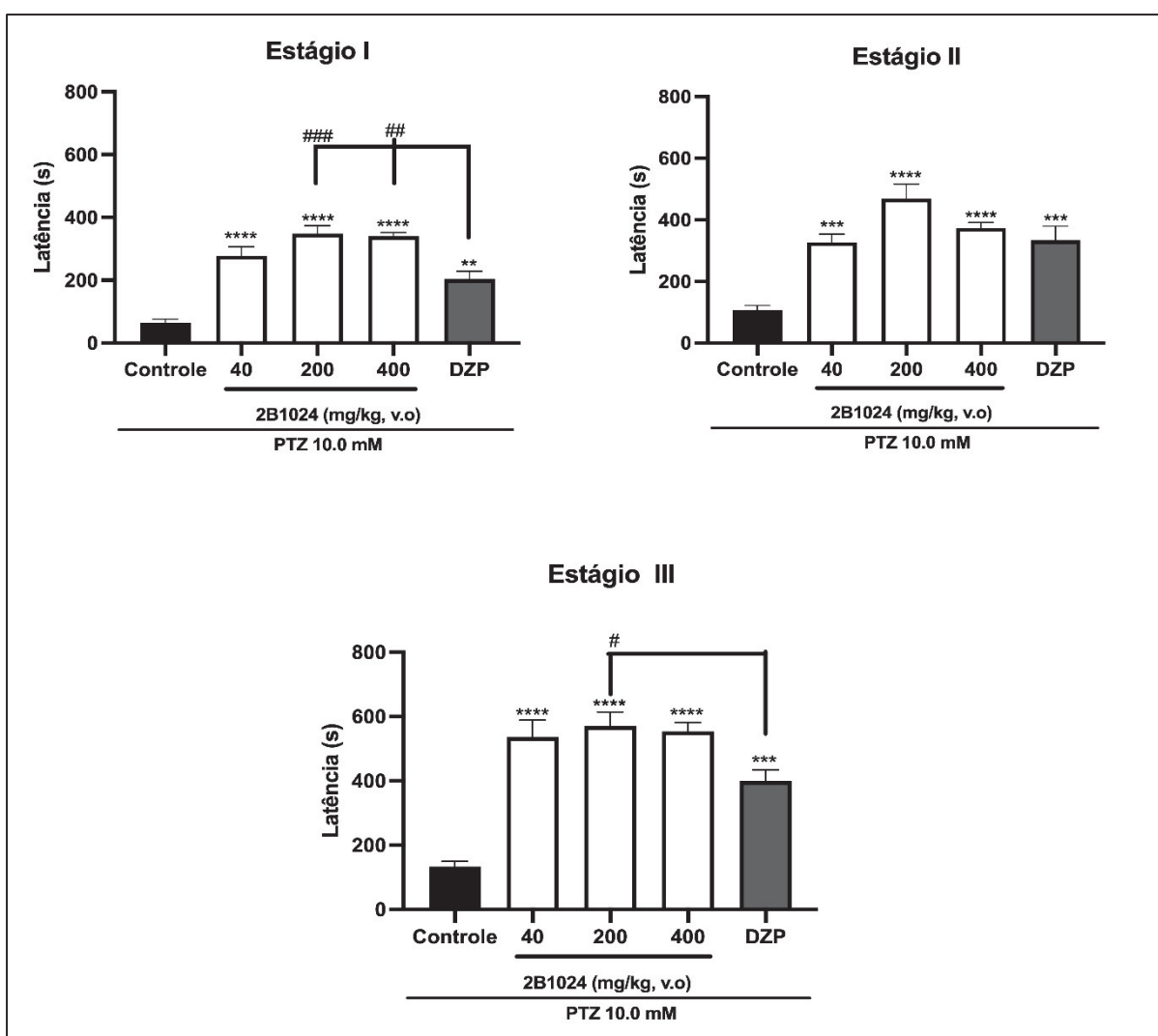
FONTE: A autora (2025).

É possível notar que o EEP de geoprópolis da espécie mandaçaia não foi eficaz contra as convulsões induzidas por PTZ, quando comparada ao efeito neuroprotetor do principal medicamento de referência e controle positivo, o Diazepam. É possível

notar que não houve efeito em nenhuma das dosagens testadas, com destaque para o estágio 3 de convulsão, cuja manifestação comportamental apresenta notável semelhança com os episódios convulsivos observados em humanos ($****p < 0,0001$ $p < 0,01$; $##p < 0,05$; $###p < 0,001$; $####p < 0,0001$ vs. DZP).

Com relação às amostras de EEP e FDi de própolis da espécie jataí, os resultados seguem indicados nas Figuras 40 e 41.

FIGURA 40 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE EEP DE PRÓPOLIS DE ABELHA JATAÍ DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA

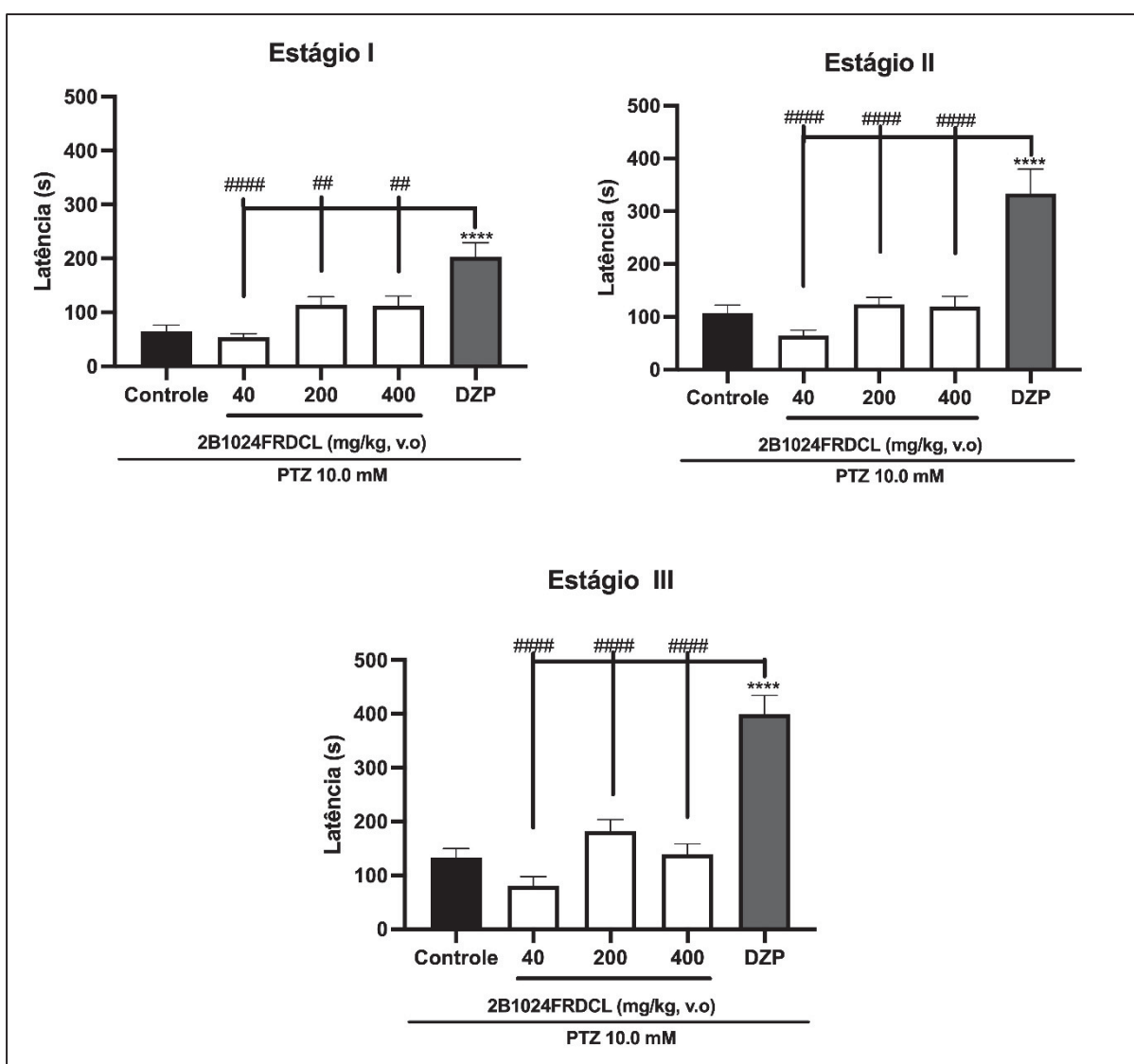


FONTE: A autora (2025).

Observa-se que o EEP da espécie jataí apresenta efeito anticonvulsivante significativo em crises induzidas por PTZ em *zebrafish*, quando comparado ao fármaco de referência e controle positivo, o Diazepam. As três dosagens testadas

demonstraram atividade relevante, sobretudo no estágio 3 de convulsão, considerado o mais prejudicial em humanos. Esses resultados evidenciam um aumento na latência de progressão dos estágios convulsivos, indicando um possível efeito protetor contra as crises. Entretanto, tal efeito não foi observado na FDi da própolis (Figura 41, sugerindo que o composto bioativo responsável pela atividade neuroprotetora pode não estar concentrado nessa fração).

FIGURA 41 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE FDI DE PRÓPOLIS DE ABELHA JATAÍ DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA

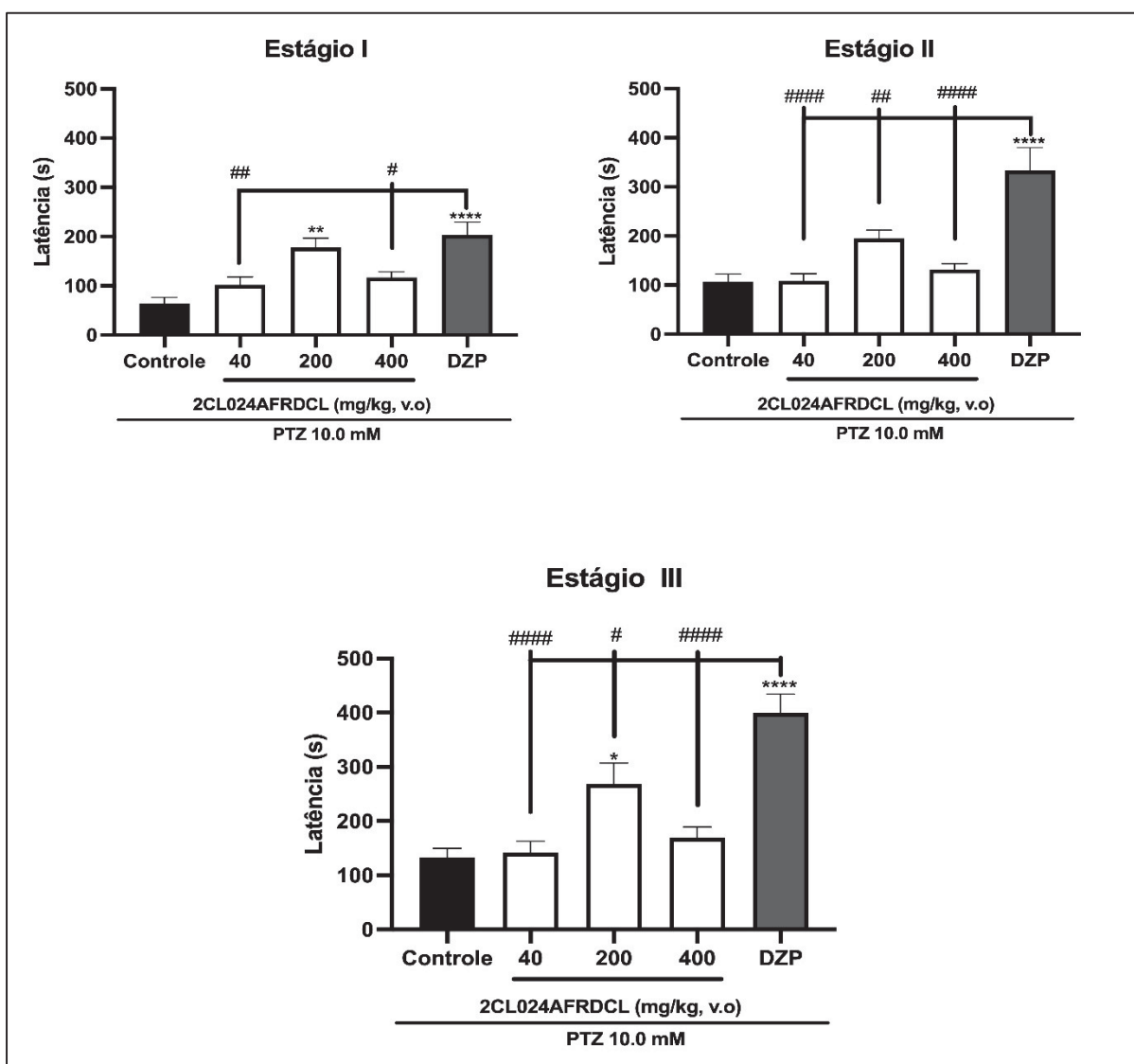


FONTE: A autora (2025).

A FDi da própolis da espécie manduri foi avaliada, e os resultados apresentados na Figura 42 indicam efeito anticonvulsivante significativo

exclusivamente na dose de 200 mg/kg. Os efeitos mais pronunciados foram observados nos estágios I e III, nos quais se verificou um aumento expressivo do tempo de latência entre os episódios convulsivos, evidenciando uma possível ação neuroprotetora associada à modulação da excitabilidade neuronal (Ferreira, 2022; Guedes *et al.*, 2022; Lima *et al.*, 2022).

FIGURA 42 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE FDI DE PRÓPOLIS DE ABELHA MANDURI DA MICRORREGIÃO DE CURITIBA



FONTE: A autora (2025).

Uma possível justificativa para a ausência de efeito anticonvulsivante observada no EEP de geoprópolis da espécie mandaçaia pode estar relacionada à sua interação limitada com os receptores GABA_A. Embora, no ensaio ansiolítico, o

EEP tenha ativado esses receptores, esse mesmo mecanismo não se confirmou nos testes anticonvulsivantes, o que sugere que o extrato pode não apresentar afinidade suficiente por esses receptores ou não ser capaz de modulá-los de maneira efetiva e comparável aos benzodiazepínicos (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira *et al.*, 2020).

Em relação ao EEP da espécie jataí, a avaliação do mecanismo de ação da ansiedade indicou a ativação da via GABAérgica, o que sustenta sua ação anticonvulsivante mediada por esse sistema. Contudo, o efeito anticonvulsivante não foi reproduzido pela FDi da mesma amostra, embora o diclorometano seja eficiente na extração de terpenos e terpenoides, classes químicas predominantes nas amostras de própolis de jataí. Essa ausência de efeito pode estar associada ao fato de que a atividade anticonvulsivante depende, possivelmente, da ação sinérgica entre múltiplos compostos. Nesse sentido, Knap *et al.* (2023) demonstraram que a combinação de diferentes constituintes, em proporções semelhantes às encontradas num extrato integral, produz um efeito hiperaditivo da neuroproteção no modelo de convulsão induzida por PTZ. Contudo, o fracionamento pode eliminar co-fatores essenciais presentes no extrato, comprometendo a eficácia anticonvulsivante observada no extrato não fracionado (Cavalcante *et al.*, 2025; Knap *et al.*, 2023).

A FDi da própolis da manduri representou efeito anticonvulsivante na dosagem de 200 mg/kg. No entanto, no teste ansiolítico, a dose efetiva foi de 400 mg/kg, indicando que o mecanismo de ação primário, nesse caso, ocorreu pela via serotoninérgica, especificamente por meio da modulação dos receptores 5-HT_{3A/3B}. Essa diferença entre as doses eficazes pode elucidar a atividade neuroprotetora observada no modelo de convulsão (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira *et al.*, 2020; Matos, 2024).

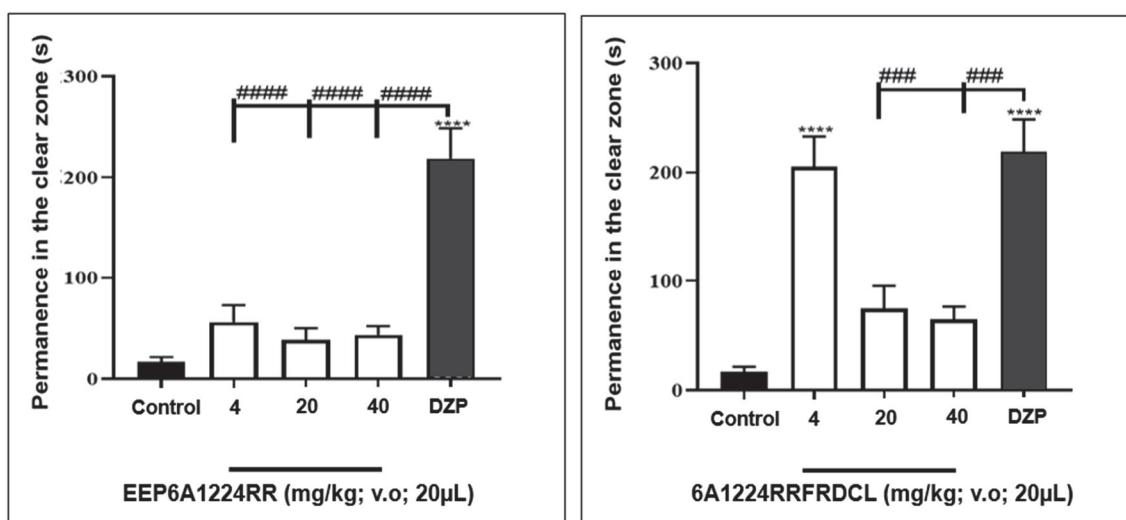
A dose de 400 mg/kg, eficaz no ensaio ansiolítico, pode ter promovido maior afinidade e ação predominante sobre o sistema serotoninérgico. Por outro lado, quando a dose foi reduzida para 200 mg/kg no teste anticonvulsivante, é possível que a concentração de outros compostos bioativos presentes na FDi tenha se tornado mais relevante, alcançando níveis suficientes para interagir com receptores GABAérgicos (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira *et al.*, 2020; Matos, 2024). Ademais, a mudança de um mecanismo primário serotoninérgico (5-HT) para um efeito que passa a incluir modulação GABAérgica é possível e compatível com o comportamento de algumas moléculas que exercem ações multimodais, variando conforme a dose, a afinidade e a competição pelos receptores-alvo (Matos, 2024).

Uma abordagem alternativa seria realizar novos testes utilizando todas as frações nas mesmas concentrações, considerando que alguns terpenos já demonstraram possuir atividade anticonvulsivante significativa em modelos de convulsão induzida por PTZ. Dessa forma, a comparação entre os diferentes compostos poderia contribuir para a identificação de propriedades estruturais ou funcionais essenciais para a eficácia anticonvulsivante (Cavalcante *et al.*, 2025).

5.2.10 Análise da ação ansiolítica e via de neuromodulação de EEP e FDi da geoprópolis da RL

A avaliação da ação ansiolítica do EEP e sua respectiva FDi da amostra 6A1224RR, derivados de geoprópolis de mandaçaia proveniente da meliponicultura do litoral, revelou efeito ansiolítico apenas para a FDi na dose de 4 mg/kg ($***p < 0,001$; $****p < 0,0001$ vs. Controle), ($####p < 0,001$; $#####p < 0,0001$ vs. DZP). Esse efeito foi equiparado ao observado nos animais tratados com o controle positivo, Diazepam. Tal resultado se deve ao fato de que os animais apresentaram maior tempo de permanência na zona clara do aquário, o que indica a redução do comportamento de ansiedade. Em contraste, as doses de 20 e 40 mg/kg não demonstraram efeito ansiolítico estatisticamente significativo. A Figura 43 apresenta os resultados relativos aos efeitos do EEP e da FDi da geoprópolis (6A1224RR) em *zebrafish*.

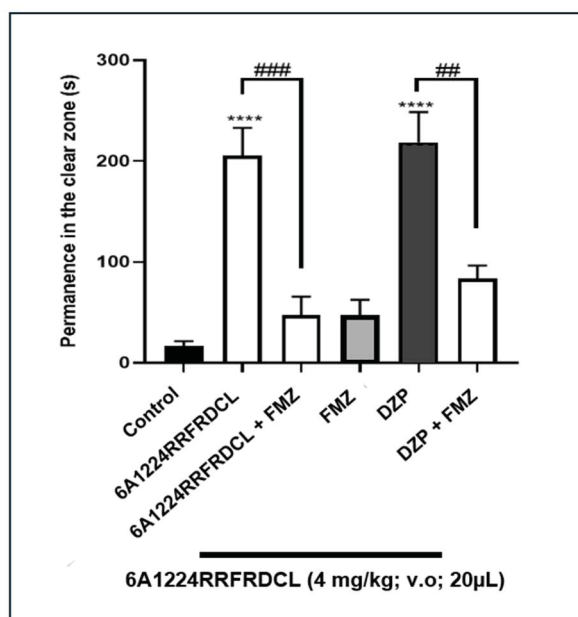
FIGURA 43 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE EEP E FDi DA ESPECIE MANDAÇAIA (6A1224RR) EM ZEBRAFISH NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)



FONTE: A autora (2025).

Com o efeito ansiolítico observado, fez-se necessária a avaliação do mecanismo de ação da amostra (6A1224RRFRDCL), via neurotransmissão GABAérgica. Para tanto, foi realizado o pré-tratamento com flumazenil, seguido da administração da dose efetiva da FDi de geoprópolis de abelhas mandaçaia (4 mg/kg) para a qual se observou o comportamento ansiolítico nos animais. Ao realizar o bloqueio da via GABA_A pelo antagonista flumazenil, a amostra teve o efeito ansiolítico reduzido, uma vez que os peixes passaram a maior parte do tempo de observação na região escura do aquário, o que evidencia o comportamento de ansiedade. Logo, a FDi de geoprópolis da abelha mandaçaia da amostra 6A1224FRDCL (4 mg/kg) ativa o receptor GABA_A (##p < 0,001 DZP vs. FMZ + DZP, ****p < 0,0001 Controle, ###p < 0,0001 6A1224RRFRDCL vs 6A1224RRFRDCL + FMZ), e atua na via de neuromodulação GABAérgica. Os resultados podem ser observados na Figura 44.

FIGURA 44 – EFEITO DA FDI DE MANDAÇAIA (6A1224RRFRDCL) NA NEUROMODULAÇÃO GABAÉRGICA EM ZEBRAFISH NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)

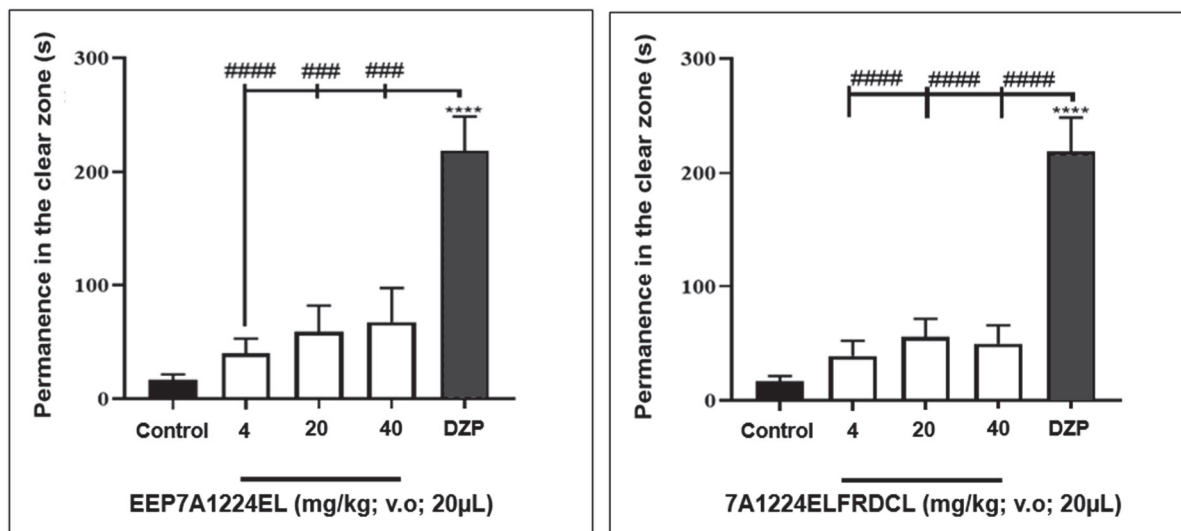


FONTE: A autora (2025).

No que tange a amostra 7A1224EL, não foi indicado efeito ansiolítico em *zebrafish* nem para o EEP (****p < 0,0001 vs control, ###p < 0,001; #####p < 0,0001 vs DZP), nem para a FDi (#####p < 0,0001 vs DZP), o que significa que os animais testados permaneceram a maior parte do tempo na região escura do aquário, o que

indica o comportamento de ansiedade. Os resultados podem ser observados na Figura 45.

FIGURA 45 – EFEITO ANSIOLÍTICO DE EEP E FDI DE ESPECIE MANDAÇAIA (7A1224EL) EM ZEBRAFISH NO TESTE DO CLARO/ESCURO (0–5 MIN)



FONTE: A autora (2025).

A atividade ansiolítica observada na FDi de amostra 6A1224RRFRDCL pode estar relacionada ao caráter ácido diterpênico da matriz química da geoprópolis da abelha mandaçaia. Essa seria uma explicação possível, uma vez que já foram identificados diversos compostos terpênicos capazes de modular o Sistema Nervoso Central, incluindo aqueles que atuam sobre a via GABAérgica de neuroregulação (Passos *et al.*, 2009).

Outra explicação para o efeito ansiolítico observado seria que a fração de diclorometano tende a concentrar compostos de menor polaridade, permitindo a separação eficiente de metabólitos complexos mais polares, como flavonoides glicosídicos ou açúcares, que permanecem no extrato bruto. Assim, o efeito ansiolítico observado na FDi sugere que o composto responsável pela atividade ansiolítica apresenta natureza moderadamente apolar, característica compatível com o perfil químico dos ácidos diterpênicos (Ferreira, 2022; Lima *et al.*, 2022; Passos *et al.*, 2009).

Estudos propostos por Piccinini *et al.* (2022) confirmam a relevância dos diterpenoides como indicadores da bioatividade da própolis de *M. quadrifasciata*, destacando-se que esses compostos estão entre os constituintes mais ativos da

geoprópolis de abelha mandaçaia. No entanto, é importante considerar a complexidade do perfil químico da geoprópolis de mandaçaia, o que geralmente importa que um efeito biológico seja o resultado da ação sinérgica entre as diversas classes de metabólitos secundários (flavonoides, ácidos fenólicos e diterpenos), e não de um único composto (Ferreira, 2021; Knap *et al.*, 2023).

Relevante observar que para a amostra 6A1224RRFRDCL apenas a menor dosagem testada (4 mg/kg) indicou efeito ansiolítico, fato que pode ser explicado pelo fenômeno da hormese (Mattson, 2008). A análise conjunta dos resultados obtidos e das manifestações comportamentais dos animais sugere que esse fenômeno pode explicar o aumento dos níveis de ansiedade observado nas doses mais elevadas, nas quais os peixes permaneceram ainda mais ansiosos.

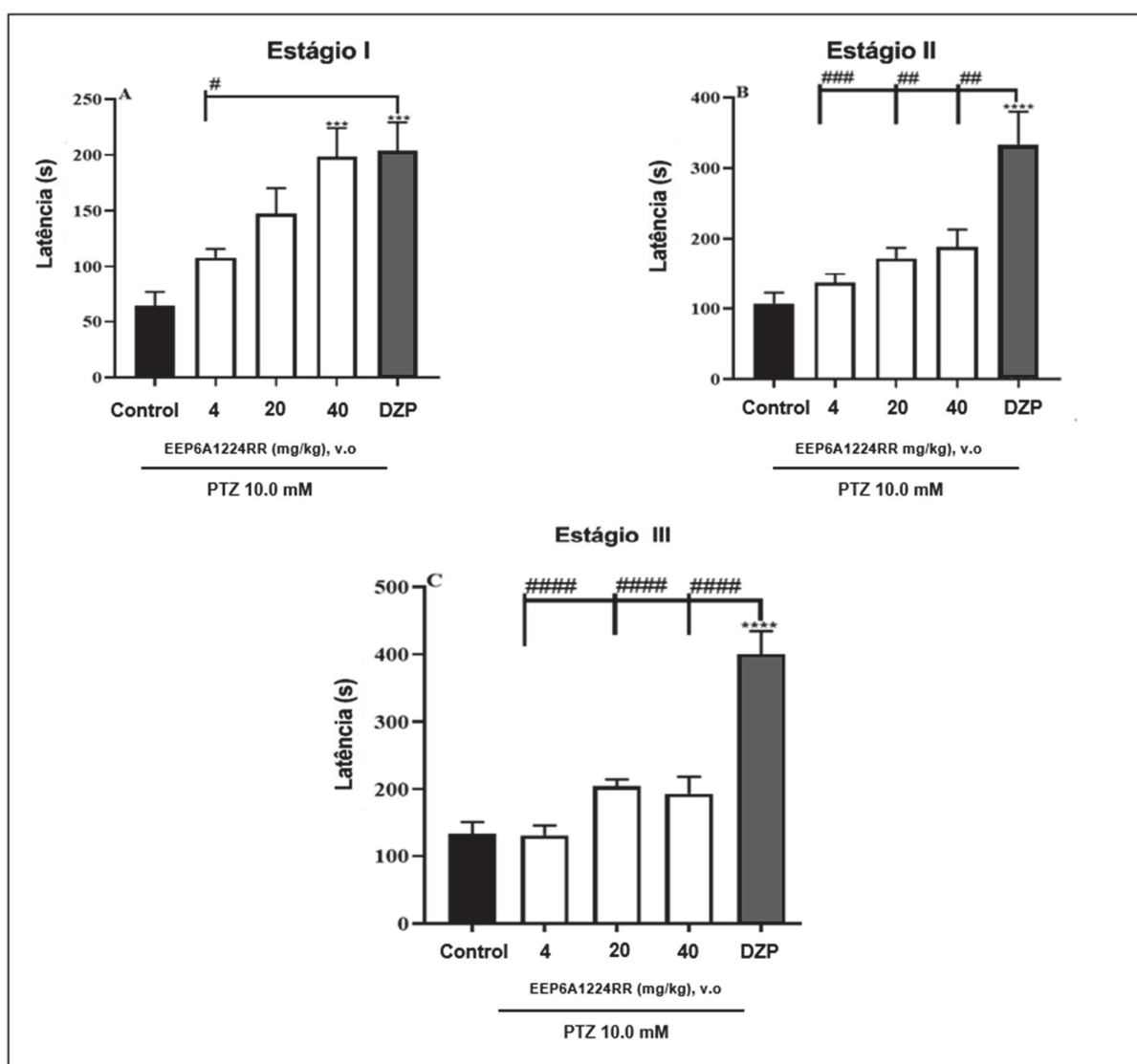
Uma hipótese para o resultado ansiolítico negativo das demais amostras de extratos (EEP6A1224RR e EEP7A1224EL) seria a presença de etanol residual na amostra, o que poderia influenciar a manutenção do efeito ansiogênico nos animais. Contudo, estudos de Santos e De Carli (2018), bem como Ferreira (2022) elencaram o etanol como um dos compostos capazes de gerar efeito ansiolítico em *zebrafish*. Logo, se fosse a situação de etanol residual em concentração suficiente para ser farmacologicamente ativo, as amostras tenderiam a promover um efeito ansiolítico, o que não ocorreu com as amostras.

Há que se considerar também que, embora as amostras sejam regionalmente classificadas como provenientes do litoral do Paraná, as áreas em que se localizam os meliponários de coletas apresentam diferenças marcantes quanto à vegetação e à disponibilidade de recursos florais para a espécie mandaçaia. A amostra bioativa, que demonstrou efeito ansiolítico, foi coletada em uma região rural do município de Paranaguá, enquanto a outra provém de Morretes. Esse último, é marcado pela variação altimétrica que sustenta um gradiente de vegetação e, conseqüentemente, uma ampla oferta de recursos florais às abelhas nativas. Em Paranaguá, os meliponários também estavam localizados em região rural, próximos a vegetação preservada, contudo de formações florestais distintas da primeira, Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas, com uma sucessão florestal bem marcante (Blum, 2013; Roderjan *et al.*, 2002).

5.2.11 Análise da ação anticonvulsivante do EEP e FDi da geoprópolis da RL

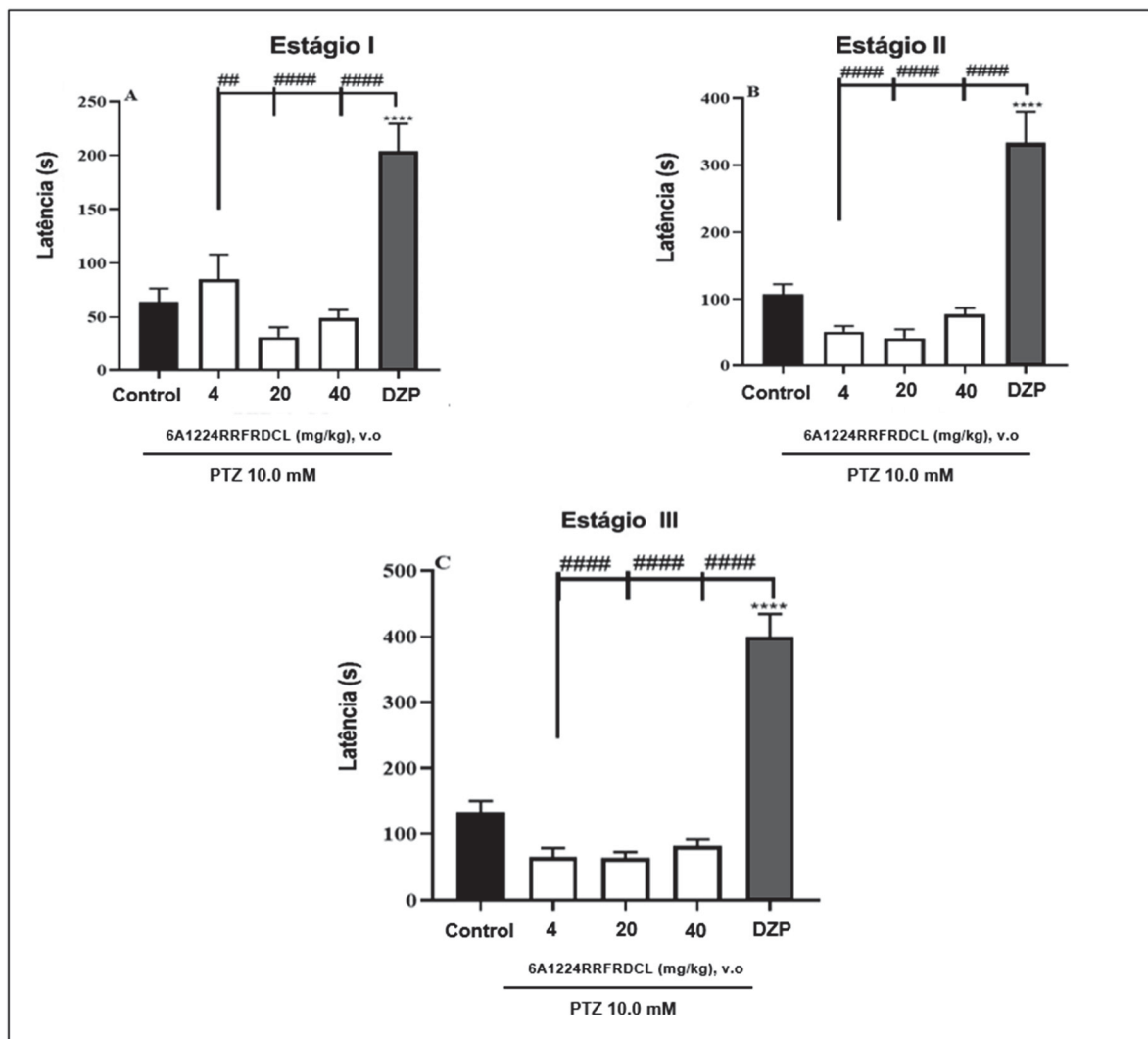
A Figura 46 apresenta os resultados do teste anticonvulsivante realizado com o EEP de geoprópolis da espécie mandaçaia (amostra 6A1224RR), que ilustram o comportamento em *zebrafish* nos estágios I, II e III das convulsões induzidas por PTZ. Por sua vez, na Figura 47 estão demonstrados os resultados do teste anticonvulsivante após a administração da FDi da mesma amostra (6A1224RRFRDCL).

FIGURA 46 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE EEP DE MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL (6A1224RR)



FONTE: A autora (2025).

FIGURA 47 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE FDi DE MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL (6A1224RR)



FONTE: A autora (2025).

Na maior dosagem testada (40 mg/kg), o EEP de geoprópolis (EEP6A1224RR) de abelha mandaçaia apresentou efeito neuroprotetor equiparável ao grupo controle positivo (Diazepam), porém restrito ao estágio I da crise. Esse achado é limitado, uma vez que não impediu a progressão para os estágios mais severos (II e III). De modo geral, o EEP não demonstrou efeito anticonvulsivante consistente em zebrafish adulto nas demais dosagens avaliadas (**** $p < 0,0001$; $p < 0,01$; ### $p < 0,05$; #### $p < 0,001$; ##### $p < 0,0001$ vs. DZP). De forma semelhante, a FDi (6A1224RRFRDCL) não replicou o efeito protetor observado no grupo controle positivo, indicando ausência de potencial anticonvulsivante para esse composto (### $p < 0,1$; ##### $p < 0,0001$ vs. DZP).

Assim como observado no EEP das amostras de geoprópolis de mandaçaia provenientes da microrregião de Curitiba, a ausência de efeito anticonvulsivante pode estar relacionada à limitada interação dos compostos com os receptores GABA_A. Tal limitação sugere que essas moléculas possivelmente não apresentam afinidade adequada por esses receptores, ou que não são eficientes na modulação dos receptores, diferentemente do que ocorre com os benzodiazepínicos (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira *et al.*, 2020). Essa interpretação é reforçada pela ausência de efeito ansiolítico no zebrafish no EEP da amostra 6A1224RR, independentemente das dosagens avaliadas e sugere que as dosagens utilizadas no teste anticonvulsivante não ativam os receptores GABA_A de forma eficiente para reverter o potente antagonismo causado pelo PTZ (Ferreira, 2022).

Outra explicação é a de que a eficácia anticonvulsivante seja fortemente dependente da dosagem. Assim, a amostra pode ter alcançado concentrações capazes de provocar antagonismo ou reversão dos efeitos esperados; ou seja, em vez de produzir ação benéfica, doses elevadas poderiam começar a antagonizar os receptores GABAérgicos (Ferreira, 2022). Esse fenômeno é compatível com o fato de que o efeito ansiolítico para a amostra 6A1224RRFRDCL foi observado apenas na menor dosagem testada, e embora a ativação dos receptores GABA_A possa ocorrer em baixas concentrações, doses mais altas podem exercer efeito oposto, inviabilizando a reversão do intenso antagonismo induzido pelo PTZ (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira, 2022; Knap *et al.*, 2023).

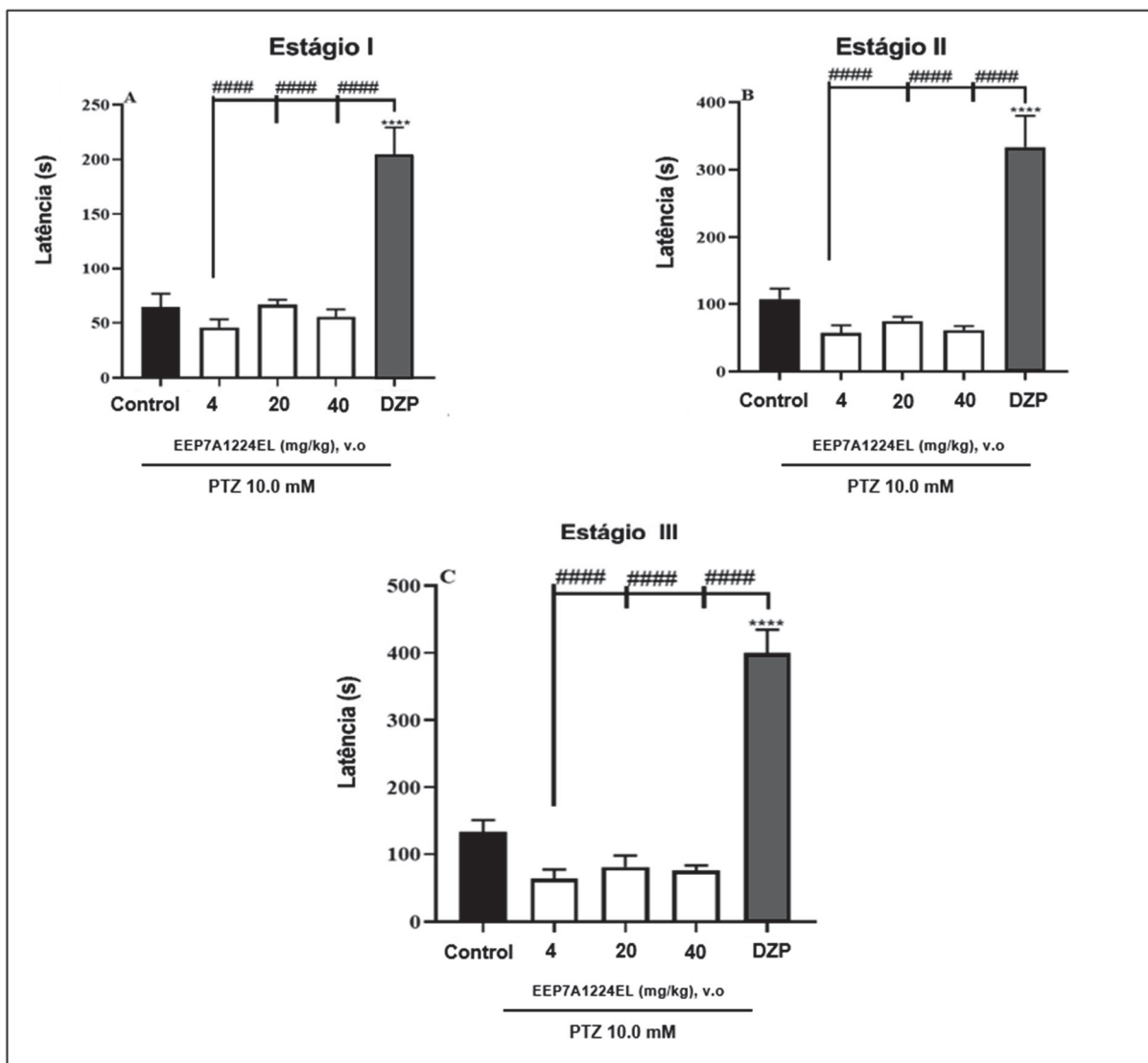
A Figura 48 apresenta os resultados do ensaio anticonvulsivante conduzido com o EEP de geoprópolis da espécie mandaçaia (amostra 7A1224EL), evidenciando as respostas comportamentais observadas nos estágios I, II e III das convulsões induzidas por PTZ. A Figura 49, por sua vez, mostra os efeitos da FDi da amostra 7A1224ELFRDCL na progressão dos estágios convulsivos, induzidos por PTZ em modelo *zebrafish*.

Como pode ser visualizado na Figura 48, o EEP de geoprópolis (EEP7A1224EL) de abelha mandaçaia não representou efeito anticonvulsivante em *zebrafish* adulto nas dosagens testadas, 4, 20 e 40 mg/kg (****p < 0,0001 p < 0,01; ##p < 0,05; ###p < 0,001; #####p < 0,0001 vs. DZP).

A Figura 49 evidencia que a FDi da amostra (7A1224RRFRDCL) não replicou o efeito neuroprotetor observado no grupo controle positivo (Diazepam), o que

representa a ausência de um potencial anticonvulsivante para esse composto ($##p < 0,1$; $####p < 0,0001$ vs. DZP).

FIGURA 48 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE EEP DE MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL (7A1224EL)

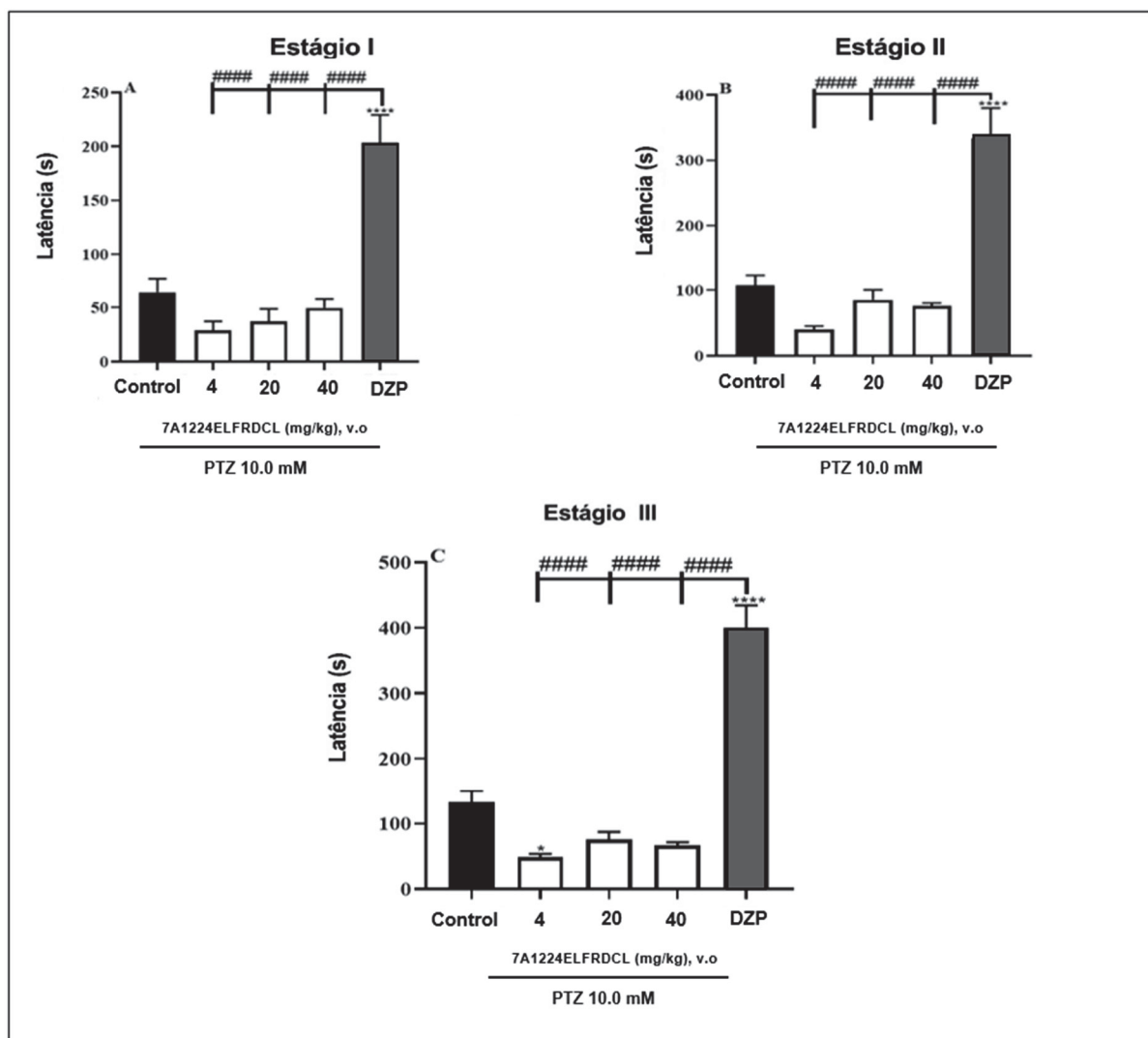


FONTE: A autora (2025).

De modo semelhante ao observado para o EEP e a FDi da amostra 6A1224RR, a ausência de efeito anticonvulsivante pode estar relacionada à limitada capacidade dos compostos em interagir ou modular adequadamente os receptores GABA_A (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira, 2022; Knap *et al.*, 2023). Ademais, o fato de a FDi não ter apresentado, em nenhuma das dosagens testadas, efeito neuroprotetor equiparável ao do Diazepam pode ser atribuído à remoção de componentes presentes

no extrato bruto, cuja participação poderia ser essencial para a manifestação desse efeito em concentrações específicas (Knap *et al.*, 2023).

FIGURA 49 – AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTICONVULSIVANTE DE FDI DE GEOPRÓPOLIS DE ABELHA MANDAÇAIA DA REGIÃO DO LITORAL (7A1224EL)



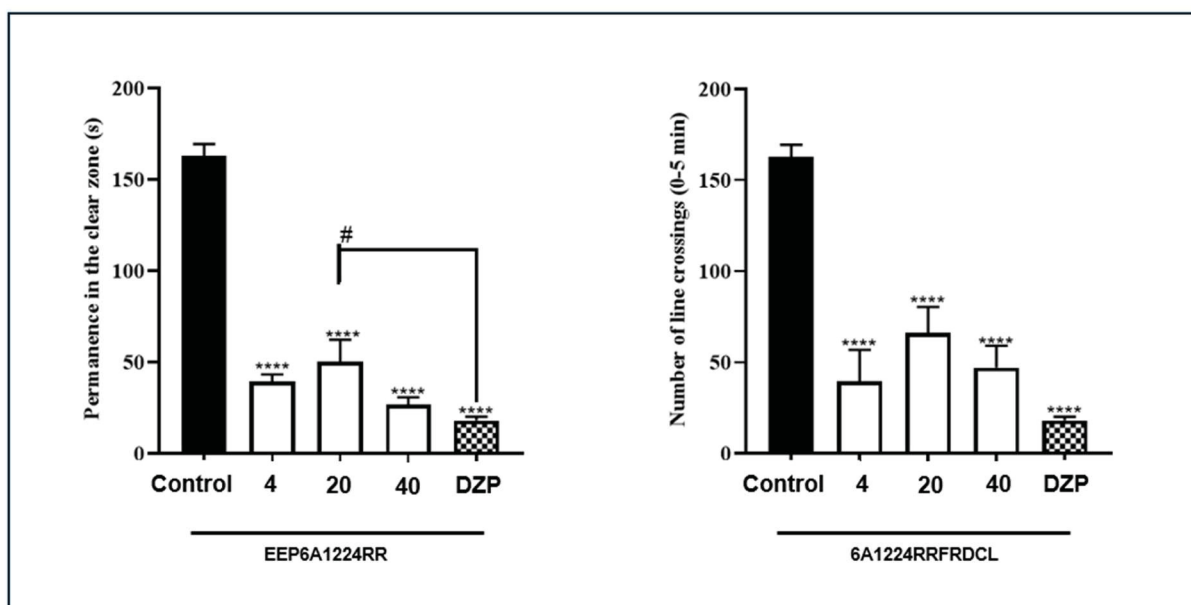
FONTE: A autora (2025).

5.2.12 Teste de Campo Aberto – OFT

Considerando a ausência da ação ansiolítica observada para as amostras de EEP e FDi de geoprópolis de *M. quadrifasciata* provenientes da região do litoral, foram realizados testes de campo aberto com o objetivo de verificar se essas amostras apresentariam alguma bioatividade capaz de alterar a coordenação motora dos animais avaliados (Magalhães *et al.*, 2017).

Os resultados do teste de campo aberto referentes ao EEP e à FDi da amostra 6A1224RR são apresentados na Figura 50, enquanto a Figura 51 reúne os dados obtidos para o EEP e a FDi da amostra 7A1224EL.

FIGURA 50 – TESTE DE CAMPO ABERTO (OFT) PARA AVALIAÇÃO DE EEP E FDi DE MANDAÇAIA (6A1224RR) NA DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DE ZEBRAFISH



FONTE: A autora (2025).

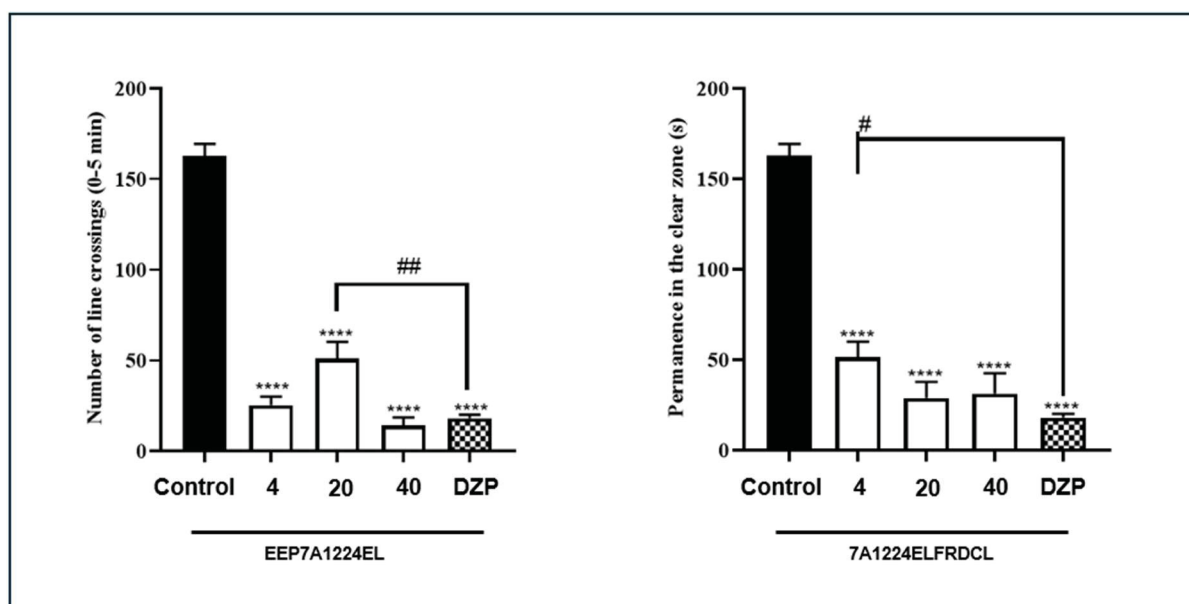
Para a amostra EEP 6A1224RR, foi possível notar que apenas a dose intermediária (20 mg/kg) apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação ao Diazepam quanto ao efeito sobre o comportamento dos animais. Ainda assim, todas as doses avaliadas promoveram alterações na locomoção, inclusive a de 20 mg/kg (**** $p < 0,0001$ vs. controle DMSO 3%), evidenciando prejuízo das funções motoras dos *zebrafish*. Apesar dessa redução locomotora, não foi observada paralisação completa, como a registrada no grupo tratado com Diazepam, o que sugere um efeito sedativo de intensidade leve a moderada. Além disso, a ausência de efeito ansiolítico no teste do Claro/Escuro, associada aos resultados obtidos no teste de campo aberto, indica que a amostra pode atuar no SNC predominantemente como sedativo ou, alternativamente, exercer efeito de relaxamento muscular no modelo *zebrafish* (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira, 2022; Ferreira *et al.*, 2020; Guedes *et al.*, 2022).

No que se refere à FDi 6A1224RRFRDCL, observa-se que todas as dosagens avaliadas apresentaram efeitos significativos sobre o comportamento dos animais

quando comparadas ao Diazepam, reportando impacto sobre a atividade locomotora. As doses de 4, 20 e 40 mg/kg (**** $p < 0,0001$ vs. DMSO 3%) promoveram redução da locomoção, indicando um efeito sedativo de intensidade leve a moderada.

O efeito ansiolítico identificado na dose de 4 mg/kg, aliado ao efeito sedativo leve observado no teste de campo aberto, pode sugerir que a resposta ansiolítica pode ser atribuída predominantemente à ação do próprio composto (geoprópolis), e não a um potencial efeito de sedação ou relaxamento muscular. Ferreira (2022), ao investigar os efeitos de chalconas no OFT e no teste claro/escuro, também relatou a redução da mobilidade em *zebrafish* acompanhada de efeito ansiolítico positivo no teste do aquário (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira, 2022; Ferreira *et al.*, 2020; Guedes *et al.*, 2022).

FIGURA 51 – TESTE DE CAMPO ABERTO (OFT) PARA AVALIAÇÃO DE EEP E FDI DE MANDAÇAIA (7A1224EL) NA DA ATIVIDADE LOCOMOTORA DE ZEBRAFISH



FONTE: A autora (2025).

Para a amostra EEP7A1224EL, os resultados indicam que para todas as doses administradas (4, 20 e 40 mg/kg) houve efeito no comportamento dos animais, ocasionando a redução da natação (**** $p < 0,0001$ vs. Control). A dose intermediária (20 mg/kg, ## $p < 0,01$ vs. DZP) destacou-se por apresentar um efeito mais pronunciado em comparação ao Diazepam.

Contrariamente, a FDi (7A1224ELFRDCL) na menor dosagem (4 mg/kg, # $p < 0,05$ vs. DZP) não alterou o comportamento natatório dos animais. Em contrapartida,

as doses de 20 e 40 mg/kg (**p < 0,0001 vs. DMSO 3%) promoveram alterações na locomoção, indicando prejuízo das funções motoras em comparação ao grupo naive.

Assim como na amostra 6A1224RR, embora tenha ocorrido a redução da atividade locomotora, não houve imobilização completa dos animais, o que remete a um efeito sedativo de baixa a moderada intensidade (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira, 2022; Ferreira *et al.*, 2020; Guedes *et al.*, 2022). O fato de essas amostras não terem indicado efeito ansiolítico significativo no teste do claro/escuro podem ser explicados pela ausência de afinidade com o receptor GABA_A, ou ainda pela ineficácia de um ou mais compostos em modular efetivamente os sistemas de neurotransmissores (Cavalcante *et al.*, 2025; Ferreira, 2022).

5.2.13 Quadro comparativo dos efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes em *zebrafish*

A Tabela 13 apresenta a síntese dos efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes observados para os extratos e frações avaliados em *zebrafish*. A organização dos dados permite a comparação direta entre os compostos testados, bem como a identificação das respectivas dosagens efetivas, facilitando a visualização integrada dos resultados e a análise do potencial farmacológico das amostras.

TABELA 13 – QUADRO RESUMO COMPARATIVO DOS EFEITOS ANSIOLÍTICOS E ANTICONVULSIVANTES EM ZEBRAFISH DAS AMOSTRAS DA MC E RL

EFEITOS BIOLÓGICOS AMOSTRAS	MICRORREGIÃO DE CURITIBA (MC) (40, 200, 400 mg/kg)						REGIÃO DO LITORAL (RL) (4, 20, 40 mg/kg)			
	1A0924R		2B1024		2C1024		6A1224RR		7A1224EL	
	EEP	FDi	EEP	FDi	EEP	FDi	EEP	FDi	EEP	FDi
Efeito Ansiolítico (mg/kg)	400	-	40	40	-	400	-	4	-	-
Mecanismo de Ação	GABA _A	-	GABA _A	GABA _A	-	5-HT3A/3B	-	GABA _A	-	-
Efeito Anticonvulsivante (mg/kg)	-	-	40, 200, 400	-	-	200	40	-	-	-
Estágio de crise induzida por PTZ	-	-	I, II e III	-	-	I e III	I	-	-	-

FONTE: A autora (2025)

5.3 POSSÍVEIS IMPACTOS NO DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO TERRITÓRIO

Durante o desenvolvimento do presente estudo, foram realizadas duas aulas práticas no laboratório didático do Setor Litoral da UFPR, a primeira no primeiro semestre de 2025 e a segunda no segundo semestre do mesmo ano. As atividades envolveram discentes matriculados no módulo ICH – Criação de Abelhas sem Ferrão, ofertado de forma transversal aos diferentes cursos do Setor Litoral, além de associados da AME e membros da comunidade externa (associação de moradores de bairros do município de Matinhos/PR). Nos encontros, foram desenvolvidos procedimentos práticos relacionados à produção de extratos, óleos essenciais e outras preparações, bem como apresentados e discutidos os resultados parciais da pesquisa, promovendo a integração entre ensino, pesquisa e extensão.

A análise das propriedades físico-químicas e das atividades biológicas, juntamente com a identificação de marcadores de qualidade, sugere um potencial fortalecimento da cadeia produtiva da meliponicultura no território. Para além de seu caráter produtivo, a meliponicultura pode ser considerada patrimônio territorial, conforme discutido por Veiga (2023), por representar uma prática sociocultural enraizada na região e com possível impacto no desenvolvimento local. Nesse contexto, os resultados indicam que a meliponicultura poderia contribuir para o desenvolvimento territorial sustentável, integrando conservação ambiental, valorização dos saberes tradicionais e inovação científica. Tal perspectiva aponta para a ampliação das oportunidades de geração de renda, qualificação produtiva e desenvolvimento de produtos terapêuticos seguros, fortalecendo de forma potencial as comunidades que vivem, manejam e constroem socialmente o território.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo alcançou seus objetivos ao avaliar o potencial biológico e delinear o perfil químico da própolis e da geoprópolis produzidas por abelhas nativas sem ferrão das espécies *Mandaçaia quadrifasciata*, *Tetragonisca angustula* e *Melipona marginata* em duas distintas regiões do Paraná. A caracterização química permitiu identificar marcadores consistentes e estabelecer correlações entre a composição, a origem geográfica e as atividades farmacológicas.

Foram observados padrões quimiotaxonômicos distintos para cada espécie, evidenciando que tanto a diversidade florística quanto o processamento enzimático contribuem para as diferenças entre as amostras. A própolis de *T. angustula* apresentou uma matriz química dual, enquanto *M. marginata* revelou um quimiotipo diterpênico ácido, reforçando o papel da espécie de abelha na composição final do produto.

Em relação às propriedades biológicas, os extratos mostraram segurança farmacológica e indicaram potencial ansiolítico, com atuação em diferentes vias de neuromodulação: enquanto as própolis de *M. quadrifasciata* e *T. angustula* sugerem ação via sistema GABAérgico, a fração isolada de *M. quadrifasciata* indicou envolvimento do sistema serotoninérgico. A atividade ansiolítica das amostras do litoral foi mais restrita, destacando a necessidade de investigações adicionais, inclusive sobre características singulares, como a coloração azul observada em algumas geoprópolis de mandaçaia.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, P. *Mapeamento dos remanescentes vegetais arbóreos do estado do Paraná e elaboração de um sistema de informações geográficas para fins de análise ambiental do estado*. 2013. 127 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/34798>. Acesso em: 24 jun. 2025.
- AHMAD, F.; RICHARDSON, M. K. Exploratory behaviour in the open field test adapted for larval zebrafish: Impact of environmental complexity. **Behavioural Processes**, v. 92, p. 88–98, 2013.
- ARAÚJO, R. de C. M. dos S.; ANDRADE, W. M. de; NOGUEIRA, E. M. de S. Povos Indígenas e Abelhas sem ferrão (Apidae, Meliponini) nas Macrorregiões Brasileiras. **Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar**, v. 9, n. 29, 2023. Disponível em: <https://periodicos.apps.uern.br/index.php/RECEI/article/view/4470>. Acesso em: 21 jun. 2024.
- BANKOVA, V. Recent trends and important developments in propolis research. **Recent trends and important developments in propolis research**, v. 2, n. 1, p. 29–32, 2005. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1093/ecam/neh059>. Acesso em: 27 jul. 2024.
- BANKOVA, V. *et al.* Standard methods for Apis mellifera propolis research. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 2, p. 1–49, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1222661>. Acesso em: 1 dez. 2025.
- BANKOVA, V.; POPOVA, M.; TRUSHEVA, B. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. **Chemistry Central Journal**, v. 8, p. 28, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4014088/>. Acesso em: 2 dez. 2025.
- BARBIERI JUNIOR, C.; FRANCOY, T. M. Modelo teórico para análise interdisciplinar de atividades humanas: A meliponicultura como atividade promotora da sustentabilidade. **Ambiente & Sociedade**, v. 23, p. 01–20, 2020. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/003003940>. Acesso em: 19 jun. 2024.
- BASÍLIO, J. A. D. *Desenvolvimento e avaliação in vitro da atividade cicatrizante de membranas poliméricas incorporadas com própolis vermelha*. 2018. 113 f. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018. Disponível em: <http://www.repositorio.ufal.br/handle/riufal/3603>. Acesso em: 8 dez. 2025.
- BENNEH, C. K. *et al.* Maerua angolensis stem bark extract reverses anxiety and related behaviours in zebrafish-Involvement of GABAergic and 5-HT systems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 207, p. 129–145, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874116318311>. Acesso em: 7 dez. 2025.

BERGAMINI, A. P. C. *Estudo da composição química e do potencial bioativo de geoprópolis e da própolis de abelhas sem ferrão nativas do Espírito Santo*. 2023. 126 f. Tese (doutorado) - Universidade Vila Velha, Vila Velha, 2023. Disponível em: <https://repositorio.uvv.br/handle/123456789/1000>. Acesso em: 21 jun. 2024.

BERINGER, J.; MACIEL, F. L.; TRAMONTINA, F. F. O declínio populacional das abelhas: Causas, potenciais soluções e perspectivas futuras. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 5, n. 1, p. 18–27, 2019. Disponível em: <http://revista.uergs.edu.br/index.php/revuergs>. Acesso em: 3 ago. 2024.

BIGARELLA, J. J. Contribuição ao Estudo da Planície Litorânea do Estado do Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. jubilee, p. 65–110, 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/dCHQScdfTNPtx3Hk5Fhrhv/?lang=pt>. Acesso em: 11 jul. 2024.

BLUM, C. T. A floresta ombrófila densa na Serra da Prata, Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange, Pr. Curitiba, 2013. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/3881>. Acesso em: 20 jun. 2025.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA n.º 496 de 19 de agosto de 2020. Disciplina o uso e o manejo sustentáveis das abelhas nativas-sem-ferrão em meliponicultura. 2020. Disponível em: Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 163, p. 68–69, 24 ago. 2020. Acesso em: 15 set. 2025.

BRASIL. Convenção Sobre Diversidade Biológica. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade-e-biomas/convencao-sobre-diversidade-biologica/convencao-sobre-diversidade-biologica>. Acesso em: 25 jul. 2024.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Instrução Normativa IBAMA n.º 169, de 20 de fevereiro de 2008. 2008. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/component/legislacao/?view=legislacao&force=1&legislacao=113878>. Acesso em: 7 set. 2025.

BRASIL. Lei nº 9985 de 18 de julho de 2000. Regulamenta o art. 225, §1º, incisos I, II, III e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências. 2000. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9985.htm. Acesso em: 22 jul. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n.º 24, de 14 de junho de 2011. 2011. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/rdc0024_14_06_2011.pdf. Acesso em: 7 set. 2025.

CABRAL, I. S. R. *et al.* Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v. 32, n. 6, 2009. Disponível em: [https://www.periodicos-capes.gov-br.ez1.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/buscar.html?task=detalhes&source=&id=W2092984020](https://www.periodicos-capes.gov.br.ez1.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/buscar.html?task=detalhes&source=&id=W2092984020). Acesso em: 24 jun. 2024.

CARDOSO, E. de O. *Ação sinérgica de componentes da própolis sobre produção de citocinas e atividade bactericida de monócitos humanos*. 2014. 1 CD-ROM. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Enfermagem) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2014. Disponível em: <https://www-periodicos-capes-gov-br.ez22.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/buscador.html?task=detalhes&source=&id=W2589001492>. Acesso em: 19 jun. 2024.

CARDOZO, D. V.; MOKOCHINSKI, J. B.; MACHADO, C. S.; SAWAYA, A. C. H. F.; CAETANO, I. K.; FELSNER, M. L.; TORRES, Y. R. Variabilidade Química de Geoprópolis Produzida pelas Abelhas sem Ferrão Jataí, Mandaçaia e Mandurí. **Revista Virtual de Química**, Campinas, v. 7, n. 6, p. 2456–2474, 2015. Disponível em: <https://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/1235>. Acesso em: 27 nov. 2025.

CASTELO BRANCO, A. F. V. *Aplicação de Índice de Vegetação para Análise de um Remanescente Florestal da Mata Atlântica*. 2022. 134f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/67937>. Acesso em: 19 jun. 2024.

CAVALCANTE, R. M. B. *et al.* Anxiolytic and Anticonvulsant Potential of Biosynthetic Limonene Derivatives in Adult Zebrafish. **Chemistry & Biodiversity**, v. 22, n. 2, p. e202401663, 2025. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.202401663>. Acesso em: 22 jul. 2025.

COSTANZA, R.; DE GROOT, R.; SUTTON, P.; PLOEG, S. V. D.; ANDERSON, S. J.; KUBISZEWSKI, I.; FARBER, S.; TURNER, R. K. Changes in the global value of ecosystem services. **Global Environmental Change**, v. 26, p. 152–158, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959378014000685>. Acesso em: 6 jul. 2024.

DEAN, W. *A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira*. São Paulo: Companhia das Letras, 1996. 484 p. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59701996000300014&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 17 jul. 2024.

FEITOSA, L. G. P. *et al.* Characterization of Larvicidal Diterpene Resin Acids in *Melipona quadrifasciata* Geopropolis via LC-ESI-MS/MS, GC-MS and Computational Analysis. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 39, n. 12, p. e10025, 2025. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/rcm.10025>. Acesso em: 31 out. 2025.

FELÍCIO, I. M.; CAVALCANTI, A. M. T.; BARANGER, K.; OLIVEIRA JUNIOR, R. G.; POIROT, B.; PICOT, L.; CAVALCANTE, F. A. Brazilian propolis: Chemical composition, regional variability, and bioactive potential. **Fitoterapia**, v. 185, p. 106687, 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X25003132>. Acesso em: 9 jul. 2025.

FERREIRA, M. K. A. *et al.* Anxiolytic-like effect of chalcone N-{4'[(2E)-3-(3-nitrophenyl)-1-(phenyl)prop-2-en-1-one]} acetamide on adult zebrafish (*Danio rerio*): Involvement of the 5-HT system. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 526, n. 2, p. 505–511, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X20306203>. Acesso em: 3 jun. 2025.

FERREIRA, M. K. A. *Avaliação do Potencial Ansiolítico e Anticonvulsante de Chalconas Halogenadas e Acetamido Chalconas utilizando Zebrafish como Modelo Animal*. 2022. 101 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2022. Disponível em: <https://www.uece.br/ppqcn/pesquisa/teses/teses-2022/>. Acesso em: 22 jul. 2025.

FERREIRA, V. U. *Caracterização química, atividades antioxidante, antileucêmica e antimicrobiana da própolis âmbar sul brasileira*. 2017. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS, Brasil. Disponível em: <http://dspace.unipampa.edu.br/jspui/handle/rii/1467>. Acesso em: 15 jul. 2025.

FERREIRA, J. de B. *Efeitos Comportamentais de Concentração Ambiental de Fluoxetina em Zebrafish*. 2020. 43 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal Goiano, Urutaí, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/1200>. Acesso em: 7 set. 2025.

FERREIRA, R. da C. *Elaboração de formulação semissólida com potencial farmacêutico à base de extrato da Geoprópolis da *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Mandaçaia)*. 2021. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/34244>. Acesso em: 4 dez. 2025.

FUNDAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - FUNPAR. Relatório 02: Diagnóstico da Realidade Municipal – Parte 01. Revisão do Plano Diretor de Mandirituba. Curitiba: FUNPAR, 2020. Disponível em: <https://mandirituba.pr.gov.br/wp-content/uploads/2020/05/Fase-02-Relat%C3%B3rio-02-%E2%80%93-Diagn%C3%B3stico-PDM.pdf>. Acesso em: 7 set. 2025.

GEBAUER, D. L.; PAGNUSSAT, N.; PIATO, A. L.; SCHAEFER, I. C.; BONAN, C. D.; LARA, D. R. Effects of anxiolytics in zebrafish: Similarities and differences between benzodiazepines, buspirone and ethanol. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 99, n. 3, p. 480–486, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305711001316>. Acesso em: 20 out. 2025.

GEMIM, B. S.; SILVA, F. A. M.; SCHAFFRATH, V. R. Aspectos socioambientais da meliponicultura na região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Guaju: Revista Brasileira de Desenvolvimento Territorial Sustentável**, v. 8, 2022. DOI: 10.5380/guaju.v8i0.82451. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/guaju/article/view/82451>. Acesso em: 17 mar. 2026.

GONÇALVES, N. G. G. *et al.* Protein fraction from *Artocarpus altilis* pulp exhibits antioxidant properties and reverses anxiety behavior in adult zebrafish via the

serotonergic system. **Journal of Functional Foods**, v. 66, n. April 2019, p. 103772, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464619306966>. Acesso em: 20 jul. 2025.

GONÇALVES, R. B.; BRANDÃO, C. R. F. Diversidade de abelhas (Hymenoptera, Apidae) ao longo de um gradiente latitudinal na Mata Atlântica. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 51–61, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bn/a/p35FF5dXnNpZh4xvSK6zfWj/?lang=pt>. Acesso em: 24 jun. 2024.

GUEDES, J. M. *et al.* Anxiolytic-like Effect in Adult Zebrafish (*Danio rerio*) through GABAergic System and Molecular Docking Study of Chalcone (E)-1-(2-hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 15, 2022. Disponível em: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2022/01/BRIAC131.015.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2025.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Cidades e Estados: Morretes (PR). Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/morretes/panorama>. Acesso em: 4 ago. 2024.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Manual técnico da vegetação brasileira. 2. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv63011.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2026.

JANSEN, C. *Própolis: fitoquímicos e atividade antioxidante, antibacteriana e citotóxica*. 2015. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015. Disponível em: <http://guaiaca.ufpel.edu.br/xmlui/handle/prefix/3881>. Acesso em: 19 jun. 2024.

JOLY, C. *et al.* Biodiversidade terrestre e marinha: conservação, uso e desenvolvimento sustentável. **FAPESP 60 anos: a Ciência no desenvolvimento nacional (60 years of FAPESP: advancing science for national development)**, p. 80-109, 2022. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/003201699>. Acesso em: 20 ago. 2024.

JOLY, Carlos A. *et al.* Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Revista USP**, n. 89, p. 114-133, 2011. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/revusp/article/view/13873>. Acesso em: 22 jul. 2024.

KERR, W. E.; ZILSE, G. A. C.; NASCIMENTO, V. A. *Abelha urucu: biologia, manejo e conservação*. Belo Horizonte, MG: Fundação Acangaú, 1996. 144 p. Disponível em: https://www.academia.edu/37180131/Abelha_Uru%C3%A7u_Warwick_Estevam_Kerr. Acesso em: 5 jul. 2025.

KNAP, B. *et al.* Zebrafish as a robust preclinical platform for screening plant-derived drugs with anticonvulsant properties—a review. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 16, 2023. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/molecular-neuroscience/articles/10.3389/fnmol.2023.1221665/full>. Acesso em: 4 dez. 2025.

LAVINAS, F. C. et al. Brazilian stingless bee propolis and geopropolis: promising sources of biologically active compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 389-399, 2019. DOI: 10.1016/j.bjp.2018.11.007. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1016/j.bjp.2018.11.007?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 21 jun. 2024.

LEONARDO, E. D.; HEN, R. Anxiety as a Developmental Disorder. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 1, p. 134–140, 2008. DOI: 10.1038/sj.npp.1301569. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/1301569>. Acesso em: 21 jul. 2025.

LIMA, C. L. S. et al. Physiological and drug bases of anxiety disorder. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e808997780, 2020. DOI: [10.33448/rsd-v9i9.7780](https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7780). Disponível em: <https://rsdjournal.org/rsd/article/view/7780>. Acesso em: 02 set. 2025.

LIMA, J. dos R. et al. Diterpene Sonderianin isolated from *Croton blanchetianus* exhibits acetylcholinesterase inhibitory action and anxiolytic effect in adult zebrafish (*Danio rerio*) by 5-HT system. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n. 24, p. 13625–13640, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1991477>. Acesso em: 4 dez. 2025.

LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; ROLIM NETO, P. J. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 447–454, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/x4sTg6wQWMW6zNLKfdp5hDb/>. Acesso em: 27 jul. 2024.

MAGALHÃES, F. E. A. et al. Adult Zebrafish (*Danio rerio*): An Alternative Behavioral Model of Formalin-Induced Nociception. **Zebrafish**, v. 14, n. 5, 2017. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/zeb.2017.1436>. Acesso em: 5 dez. 2025.

MASSBANK CONSORTIUM. *MassBank* [base de dados]. Disponível em: <https://massbank.eu/>. Acesso em: 1 nov. 2025.

MATOS, I. da R. Importantes áreas de atuação do Zebrafish como modelo experimental: uma breve revisão. p. 41 p.-41 p., 2022. Disponível em: <https://repositorio.butantan.gov.br/handle/butantan/4997>. Acesso em: 7 set. 2025.

MATOS, M. G. C. *Síntese, estudo in silico, avaliação do potencial antichagásico, ansiolítico e anticonvulsivante utilizando Zebrafish (Danio Rerio) de hidroxí-chalconas*. 2024. 158 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2024. Disponível em: <http://siduece.uece.br/siduece/trabalhoAcademicoPublico.jsf?id=115739> Acesso em: 19 abr. 2025.

MATTSON, Mark P. Hormesis defined. **Ageing research reviews**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568163707000712>. Acesso em: 23 out. 2025.

MENDONÇA, F. dos S. *Interação do comportamento reprodutivo com o comportamento de alarme em peixe-zebra (Danio rerio) - papel do sistema serotoninérgico*. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2024. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/279571>. Acesso em: 1 set. 2025.

MILDENBERGER, T. K.; TAYLOR, M. H.; WOLFF, M. TropFishR: an R package for fisheries analysis with length-frequency data. TropFishR: an R package for fisheries analysis with length-frequency data, **Methods in Ecology and Evolution**, v. 8, n. 1, p. 1520–1527, 2017. Disponível em: <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/2041-210X.12791>. Acesso em: 5 dez. 2025.

MOLINA, I. R. Estudo Metabolômico da Influência dos Solventes de Extração da Geoprópolis Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*) obtida em Duas Estações Climáticas, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/250357>. Acesso em: 27 nov. 2025.

MONTEIRO, D.; RAMALHO, M. Abelhas generalistas (*Meliponina*) e o sucesso reprodutivo de *Stryphnodendron pulcherrimum* (Fabales: Mimosaceae) com florada em massa na Mata Atlântica, BA. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 519–526, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ne/a/GQ9BT86YPDDdQthMn9Gqv9Q/>. Acesso em: 5 jul. 2025.

MUSSIO, C. F.; DIAS, A. N.; FIGUEIREDO FILHO, A.; HIGUCHI, P.; GRESPAN, T.; RUIZ, E. C. Z. Regeneração natural em fragmentos de floresta ombrófila mista de pequenas propriedades rurais no Paraná. **Acta Biológica Catarinense**, v. 9, n. 1, p. 10–24, 2022. DOI: 10.21726/abc.v9i1.1708. Disponível em: <https://periodicos.univille.br/ABC/article/view/1708>. Acesso em: 12 mar. 2025.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.; MITTERMEIER, C. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 2000. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/35002501>. Acesso em: 20 jun. 2024.

NOGUEIRA NETO, P. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. 3. ed. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997. p. 446. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1073141>. Acesso em: 19 jun. 2024.

OECD. Fish, acute toxicity test. Guideline for the testing of chemicals, n. July, p. 1–9, 1992. Disponível em: https://www.oecd.org/content/dam/oecd/en/publications/reports/2000/01/test-no-215-fish-juvenile-growth-test_g1gh290d/9789264070202-en.pdf. Acesso em: 22 out. 2025.

OLIVEIRA, J. V. S. *et al.* Avaliação do Potencial Neuroprotetor e Anti-inflamatório da Própolis Vermelha em modelo de convulsão induzido por Pentilenotetrazol em animais. **Encontros Universitários da UFC**, v. 6, n. 3, p. 2022, 2021. Disponível em: <https://periodicos.ufc.br/eu/article/view/75145>. Acesso em: 7 dez. 2025.

OLIVEIRA, J. V. S. *Estudo dos efeitos neuroprotetores do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha em modelos de convulsão induzidos quimicamente em camundongos*. 2020. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/56048>. Acesso em: 6 set. 2025.

ONU. *Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável*. 2015. Disponível em: <http://www.br.undp.org/content/dam/brazil/docs/agenda2030/undp-br-Agenda2030-completo-pt-br-2016.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2024.

PARANÁ. GeoPR. 2024a. Disponível em: <https://www.geoparana.pr.gov.br/>. Acesso em: 12 ago. 2024.

PARANÁ. Insituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. Ipardes. Cobertura Vegetal Nativa Original (2015). 2015. Disponível em: https://www.ipardes.pr.gov.br/sites/ipardes/arquivos_restritos/files/documento/2020-09/Cobertura%20Vegetal%20Nativa.pdf. Acesso em: 12 ago. 2024.

PARANÁ. Insituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. Ipardes. Unidades de Conservação e Remanescentes vegetais - Paraná (2013-2014). 2013. Disponível em: https://www.ipardes.pr.gov.br/sites/ipardes/arquivos_restritos/files/documento/2019-09/Unidades%20de%20Conserva%C3%A7%C3%A3o%20e%20Remanescentes%20vegetais%20-%20Paran%C3%A1%20%282013-2014%29.pdf. Acesso em: 12 ago. 2024.

PARANÁ. Poliniza Paraná. Curitiba, 2024b. Governamental. Disponível em: <https://www.sedest.pr.gov.br/Pagina/Poliniza-Parana>. Acesso em: 4 ago. 2024.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ABREU J. A da S.; ALCICI, N. M. F. Estudo da Preparação dos Extratos de Própolis e suas Aplicações. **Food Science and Technology**, v. 18, p. 313–318, 1998. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/6v9NPQP8ghxjvkjvwMq6rHL/?lang=pt&format=htm>. Acesso em: 25 jul. 2024.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2502–2506, 2002. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf011432b>. Acesso em: 25 jul. 2024.

PARREIRAS, B. M. *Estudo piloto do própolis do Vale do Jequitinhonha: Uma avaliação por metabolômica global*. 2025. 122 f. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Química, 2025. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1843/84891>. Acesso em: 3 dez. 2025.

PASSOS, C. S. ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; VON POSER, G. L. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 140–149, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/LyGb5WhfnX9nNM87nGJ535H/?lang=pt>. Acesso em: 4 dez. 2025.

REDE BRASILEIRA DE PESQUISA EM SOBERANIA E SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL (PENSSAN). *II VIGISAN: Inquérito Nacional sobre Insegurança Alimentar no Contexto da Pandemia da COVID-19 no Brasil*. São Paulo, SP: Fundação Friedrich Ebert, 2022. Disponível em: https://redepenssan.org.br/wp-content/uploads/2026/01/VIGISAN_Inseguranca_alimentar_compressed.pdf. Acesso em: 4 dez. 2025.

PEREIRA, L. G.; MEDEIROS, M. M. Avaliação da ação antimicrobiana da própolis comercial. **Pubvet**, v. 16, n. 11, 2022. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/2941>. Acesso em: 16 maio 2024.

PICCININI, A.; SOUZA, M. H. O.; FREITAS, M. S. D.; CESCO, K.; MOURA, N. F. Chemical composition and biological activity of propolis from *Melipona quadrifasciata*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, p. e193111234175, 2022. DOI: [10.33448/rsd-v11i12.34175](https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34175). Disponível em: <https://rsdjournal.org/rsd/article/view/34175>. Acesso em: 28 nov. 2025.

PIERRI, N.; ANGULO, R. J.; SOUZA, M. C.; KIM, M. K. A ocupação e o uso do solo no litoral paranaense: condicionantes, conflitos e tendências. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 13, 2006. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/291217298>. Acesso em 20 jul. 2025.

PRODANOV, C. C.; FREITAS, E. C. de. **Metodologia do trabalho científico: métodos e técnicas da pesquisa e do trabalho acadêmico-2ª Edição**. Editora Feevale, 2013. Disponível em: <https://archive.org/details/metodologia-do-trabalho-cientifico/page/78/mode/2up>. Acesso em: 29 jul. 2024.

PubChem. PubChem. 2025. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 18 set. 2025.

REGINATO, M.; GOLDENBERG, R. Análise florística, estrutural e fitogeográfica da vegetação em região de transição entre as Florestas Ombrófilas Mista e Densa Montana, Piraquara, Paraná, Brasil. **Hoehnea**, v. 34, p. 349–360, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hoehnea/a/zx8HQz9g4rjhVGpCsPxbWLc/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 8 abr. 2025.

REIS, J. S. S.; OLIVEIRA, G. B.; MONTEIRO, M. C.; MACHADO, C. S.; TORRES, Y. R.; PREDIGER, R. D.; MAIA, C. S. F. Antidepressant- and anxiolytic-like activities of an oil extract of propolis in rats. **Phytomedicine**, v. 21, n. 11, p. 1466–1472, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711314002505>. Acesso em: 4 jun. 2025.

RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y. S.; HATSCHBACH, G. G. As unidades fitogeográficas do estado do Paraná, Brasil. **Ciência & Ambiente**, v. 24, n. 1, p. 75–92, 2002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Carlos-Roderjan-2/publication/285892213> As unidades fitogeograficas do Estado do Parana/links/

[5cab7148a6fdcca26d06bda5/As-unidades-fitogeograficas-do-Estado-do-Parana](https://doi.org/10.1007/s13592-015-0424-4).

Acesso em: 25 jul. 2024.

ROSA, A. de S.; TEIXEIRA, J. S. G.; VOLLET-NETO A.; QUEIROZ, E. P.; BLOCHTEIN, B.; PIRES, A. S. S.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Consumption of the neonicotinoid thiamethoxam during the larval stage affects the survival and development of the stingless bee, *Scaptotrigona aff. depilis*. **Apidologie**, v. 47, n. 6, p. 729–738, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0424-4>. Acesso em: 21 jun. 2024.

ROSA, J. M.; ARIOLI, C. J.; NUNES-SILVA, P.; GARCIA, F. R. M. Disappearance of pollinating bees in natural and agricultural systems: Is there an explanation?. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 18, n. 1, p. 154–162, 2019. DOI: 10.5965/223811711812019154. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/10301>. Acesso em: 20 fev. 2026.

SACCARO JUNIOR, N. L. **Desafios da bioprospecção no Brasil**. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), 2011. (Texto para Discussão, n. 1569). Disponível em: <https://www.econstor.eu/handle/10419/90930>. Acesso em: 24 jul. 2024.

SACHS, I. **Ecodesenvolvimento: crescer sem destruir**. São Paulo: Vértice, 1986.

SALPEKAR, J. A.; BASU, T.; THANGARAJ, S.; MAGUIRE, J. Chapter Eight - The intersections of stress, anxiety and epilepsy. In: CLOW, A.; SMYTH, N. (org.). **International Review of Neurobiology**. Academic Press, 2020. (Stress and Brain Health: In Clinical Conditions). v. 152, p. 195–219. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0074774220300106>. Acesso em: 22 jul. 2025.

SANTOS, M. L. D. *Mandaçaia quadrifasciata & Tetragonisca angustula: Caracterização Química e Avaliação Biológica do Óleo Volátil da Geoprópolis e Própolis*. 2023. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Matinhos, 2023. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/86438>. Acesso em: 24 jun. 2024.

SANTOS, L. L. dos; CARLI, B. P. D. Comportamento de zebrafish exposto a benzodiazepínicos. **J Health Sci Inst**, v. 36, p. 165-169, 2018. Disponível em: https://repositorio.unip.br/wp-content/uploads/2020/12/01V36_n3_2018_p165a169-1.pdf. Acesso em: 1 dez. 2025.

SFORCIN, J. M.; CONTI, B. J.; SANTIAGO, K. B.; CARDOSO, E. O.; CONTE, F. L.; OLIVEIRA, L. P. G.; ARAÚJO, M. J. A. M. Própolis e geoprópolis: uma herança das abelhas. São Paulo: Editora Unesp, 2017. 97 p. ISBN 978-85-95461-81-9. Disponível em: <https://doi.org/10.7476/9788595461819>. Acesso em: 7 dez. 2025.

SIEBEL, A. M.; MENEZES, F. P.; DA COSTA SCHAEFER, I.; PETERSEN, B. D.; BONAN, C. D. Rapamycin suppresses PTZ-induced seizures at different developmental stages of zebrafish. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 139, pt. B, p. 163–168, dez. 2015. DOI: 10.1016/j.pbb.2015.05.022. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305715300058>. Acesso em: 7 set. 2025.

SILVA, J. C.; RODRIGUES, S.; FEÁS, X.; ESTEVINHO, L. M. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1790–1795, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691512001810>. Acesso em: 25 jul. 2024.

SILVA, J. B. et al. Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia* aff. *Flavocincta* do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, p. 874–880, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/F8K8bGTYW44BkD5YpsJxzjF/?lang=pt>. Acesso em: 24 maio 2024.

SILVA, T. A. *Sustentabilidade socioeconômica e ambiental da meliponicultura*. 2025. 143f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Rural Sustentável) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2025. Disponível em: <https://tede.unioeste.br/handle/tede/7908>. Acesso em: 7 jul. 2025.

SILVA, L. E.; DOTTO, A. R. F.; REBELO, R. A. Bioprospecção e inovação na Floresta Atlântica: a atuação da REBIFLORA no litoral do Paraná e Santa Catarina. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, v. 16, n. Supl. 2, p. 227–237, 2022. DOI: [10.32712/2446-4775.2022.1241](https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1241). Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1241>. Acesso em: 22 jul. 2024.

SILVA, L. E. da; SANTOS, M. L. dos. Tecendo saberes na meliponicultura: perfil dos meliponicultores e interação entre plantas medicinais e abelhas. **Guaju: Revista Brasileira de Desenvolvimento Territorial Sustentável**, Matinhos, v. 9, Edição Especial, 2023. Disponível em: <https://www.revistas.ufpr.br/guaju>. Acesso em: 20 fev. 2026. Acesso em: 19 jun. 2024.

SILVEIRA, C. C. S. de M. da. *Efeitos neurocomportamentais e no estresse oxidativo em ratos tratados com extrato etanólico de própolis amarela*. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2015. Disponível em: <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/7507>. Acesso em: 3 jun. 2025.

SOS MATA ATLÂNTICA. Mata Atlântica | SOS Mata Atlântica. 2024. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/causas/mata-atlantica>. Acesso em: 17 jul. 2024.

SOUSA, J. P. L. de M. Estudo químico e potencial antimicrobiano da própolis brasileira produzida por diferentes espécies de abelhas. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 5, 2019. Disponível em: <https://rvq-sub.sbg.org.br/index.php/rvq/article/view/3493>. Acesso em: 6 out. 2025.

TABARELLI, M.; PINTO, L. P.; SILVA, J. M. C.; HIROTA, M. M.; BEDÊ, L. C. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, jul. 2005. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/260591848_Desafios_e_oportunidades_par

[a a conservacao da biodiversidade na Mata Atlantica brasileira](#). Acesso em 27 nov. 2025.

TIEPOLO, L. M. A inquietude da Mata Atlântica: reflexões sobre a política do abandono em uma terra cobijada. **Guaju: Revista Brasileira de Desenvolvimento Territorial Sustentável**, Matinhos, v. 1, n. 2, p. 96-109, jul./dez. 2015. Disponível em: <http://revistas.ufpr.br/guaju/article/view/45057>. Acesso em: 19 jun. 2024.

TORRES, G. V.; TIEPOLO, L. M. Evolução do uso e ocupação da terra na Bacia Hidrográfica do Rio Guaraguaçu, Mata Atlântica costeira paranaense. **Fronteira: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 11, n. 2, p. 308-317, 2022. Disponível em: <https://revistas.unievangelica.edu.br/index.php/fronteiras/article/view/4766>. Acesso em: 19 jun. 2024.

VALCANAI, C. P. *et al.* Antimicrobial Activity of Volatile Oils from Brazilian Stingless Bees *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* Propolis. *Chemistry & Biodiversity*, v. 19, n. 8, p. e202200369, 2022. Disponível em: [https://www-periodicos-capes.gov-br.ez22.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/buscaador.html?task=detalhes&source=&id=W4283166536](https://www-periodicos-capes.gov.br.ez22.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/buscaador.html?task=detalhes&source=&id=W4283166536). Acesso em: 18 jun. 2024.

VEIGA, M. B. da. *Meliponicultura como patrimônio territorial: potenciais para o desenvolvimento territorial em Morretes*. 2023. 161 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Litoral, Matinhos. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/87213>. Acesso em: 15 jul. 2024.

VELIKOVA, M.; BANKOVA, V.; MARCUCCI, M. C.; TSVETKOVA, I.; KUJUMGIEV, A. Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian Meliponinae. *Zeitschrift für Naturforschung C*, v. 55, n. 9-10, p. 785-789, 2000. Disponível em: <https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/znc-2000-9-1018/html>. Acesso em: 24 set. 2025.

VILLAS-BÔAS, J. *Manual tecnológico: Mel de abelhas sem ferrão*. Brasília – DF: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPAN), 2012. 96 p.; il. (Série Manual Tecnológico). ISBN 978-85-63288-08-0. Disponível em: <https://www.semabelhasemalimento.com.br/wp-content/uploads/2015/02/Manual-Tecnico-Mel-de-Abelhas-sem-Ferrao.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2026.