

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIA EDUARDA ZANETTI

VINÍCIUS DA SILVA COSTA

BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE TRÊS ESPÉCIES DE
ABELHAS SEM FERRÃO

PALOTINA

2025

MARIA EDUARDA ZANETTI
VINÍCIUS DA SILVA COSTA

BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE TRÊS ESPÉCIES DE
ABELHAS SEM FERRÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Federal do Paraná, Setor de Palotina, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Adriana Fiorini Rosado

PALOTINA
2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS
Rua Pioneiro, 2153, - - Bairro Jardim Dallas, Palotina/PR, CEP 85950-000
Telefone: 3360-5000 - <https://ufpr.br/>

Ata de Reunião

Aos 03 dias do mês de julho do ano de dois mil e vinte e quatro, às 19 horas, na sala 13 do bloco Seminário, Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, realizou-se a Defesa Pública e Oral do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "Bioprospecção de fungos filamentosos isolados de três espécies de abelhas sem ferrão" apresentado pelo discente Vinícius da Silva Costa, orientado pela Profa. Dra. Adriana Fiorini Rosado, como um dos requisitos obrigatórios para conclusão do curso de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Iniciados os trabalhos, a orientadora e Presidente da Banca concedeu a palavra ao discente, para exposição do seu trabalho. A seguir, foi concedida a palavra em ordem sucessiva aos membros da Banca de Exame, os quais passaram a arguir o discente. Ultimada a defesa, que se desenvolveu nos termos normativos, a Banca de Exame, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo atribuído ao discente as seguintes notas: Profa. Dra. Tania Sila Campioni Magon, nota: 90 (noventa), Prof. Dr. Fabio Rogério Rosado, nota: 90 (noventa), e Profa. Dra. Adriana Fiorini Rosado, nota: 90 (noventa). A nota final do discente, após a média aritmética dos três membros da banca de exame, foi 90 (noventa). As considerações e sugestões feitas pela Banca de Exame deverão ser atendidas pelo discente sob acompanhamento de sua orientadora. Nada mais havendo a tratar foi lavrada a presente ata, que, lida e aprovada, vai por todos assinada eletronicamente.



Documento assinado eletronicamente por **ADRIANA FIORINI ROSADO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 07/07/2025, às 23:25, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **FABIO ROGERIO ROSADO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 07/07/2025, às 23:26, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **TANIA SILA CAMPIONI MAGON, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 14/07/2025, às 21:25, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **7930866** e o código CRC **620C1F1C**.

RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade de fungos filamentosos associados a três espécies de abelhas sem ferrão: *Melipona fasciculata* (Tiúba cinzenta), *Melipona mondury* (Bugia) e *Melipona scutellaris* (Uruçú nordestina), criadas em meliponário em Palotina, PR. As abelhas foram coletadas diretamente das colmeias, colocadas em meio de cultura BDA, e os fungos isolados foram analisados por características macro e micromorfológicas, além de sequenciamento molecular da região ITS do DNA. Ao todo, foram isoladas 31 colônias fúngicas: 17 a partir de *M. fasciculata*, 9 a partir de *M. mondury* e 5 a partir de *M. scutellaris*. Os gêneros mais frequentes foram *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria* e *Trichoderma*. A diversidade foi maior em *M. fasciculata*. Parte das amostras foi submetida à extração de DNA e a amplificação, através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) da região ITS1-4, seguida de sequenciamento e identificação por comparação com o banco GenBank. Os resultados mostram que as abelhas sem ferrão podem atuar como carreadoras de diversos fungos, alguns dos quais possuem potencial biotecnológico. O estudo contribui para o conhecimento da microbiota associada às abelhas nativas e serve de base para futuras aplicações dos fungos isolados na indústria e na biotecnologia.

Palavras-chave: Abelhas-sem-ferrão; Fungos; Prospeção.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the diversity of filamentous fungi associated with three species of stingless bees: *Melipona fasciculata* (Tiúba cinzenta), *Melipona mondury* (Bugia) and *Melipona scutellaris* (Uruçú nordestina), bred in a meliponary in Palotina, PR. The bees were collected directly from the hives, placed in BDA culture media, and the isolated fungi were analyzed for macro and micromorphological characteristics, as well as molecular sequencing of the ITS region of the DNA. A total of 31 fungal colonies were isolated: 17 from *M. fasciculata*, 9 from *M. mondury* and 5 from *M. scutellaris*. The most frequent genera were *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria* and *Trichoderma*. Diversity was highest in *M. fasciculata*. Part of the samples was subjected to DNA extraction and amplification of ITS1-4 region, by Polymerase Chain Reaction (PCR), followed by sequencing and identification by comparison with the GenBank database. The results show that stingless bees can act as carriers of various fungi, some of which have biotechnological potential. The study contributes to the knowledge of the microbiota associated with native bees and provides for future applications of the isolated fungi in industry and biotechnology.

Keywords: Stingless bees; Fungi; Prospection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA METODOLOGIA REALIZADA	7
FIGURA 2 - ABELHAS UTILIZADAS NO TRABALHO	9
FIGURA 3. EXEMPLOS DAS COLMEIAS DAS ABELHAS COLETADAS NESSE ESTUDO	10
FIGURA 4 - ABELHAS TRANSFERIDAS PARA AS PLACAS DE PETRI CONTENDO BDA	11
FIGURA 5 - CULTURAS OBTIDAS DAS ABELHAS <i>Melipona fasciculata</i>	15
FIGURA 6 - CULTURAS OBTIDAS DAS ABELHAS <i>Melipona mondury</i>	16
FIGURA 7 - CULTURAS OBTIDAS DAS ABELHAS <i>Melipona scutellaris</i>	16
FIGURA 8 - FREQUÊNCIA DOS FUNGOS ENCONTRADOS EM CADA ABELHA	18
FIGURA 9 - ASPECTOS MACRO E MICROMORFOLÓGICOS DOS FUNGOS ISOLADOS DA ABELHA <i>Melipona fasciculata</i>	19
FIGURA 10 - ASPECTOS MACRO E MICROMORFOLÓGICOS DOS FUNGOS ISOLADOS DA ABELHA <i>Melipona fasciculata</i>	20
FIGURA 11 - ASPECTOS MACRO E MICROMORFOLÓGICOS DOS FUNGOS ISOLADOS DA ABELHA <i>Melipona mondury</i>	21
FIGURA 12 - ASPECTOS MACRO E MICROMORFOLÓGICOS DOS FUNGOS ISOLADOS DA ABELHA <i>Melipona scutellaris</i>	21
FIGURA 13 - ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE DO DNA GENÔMICO DOS FUNGOS E PRODUTOS DA PCR DA REGIÃO ITS	23

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: GÊNERO DE FUNGOS ISOLADOS DAS ABELHAS	17
TABELA 2 - IDENTIFICAÇÃO DE 7 ISOLADOS DE FUNGOS FILAMENTOSOS POR SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO ITS DO rDNA	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVOS	9
2.1	Objetivos gerais.....	9
2.2	Objetivos específicos.....	9
3	REVISÃO DA LITERATURA	10
3.1	Abelhas: agentes polinizadores essenciais	10
3.2	<i>Melipona fasciculata</i>	11
3.3	<i>Melipona scutellaris</i>	12
3.4	<i>Melipona mondury</i>	14
4	metodologia	15
4.1	Coleta, inoculação e isolamento dos fungos	15
4.2	Identificação macroscópica e microscópica dos fungos	18
4.3	Identificação molecular dos fungos	18
4.3.1	Extração do DNA.....	18
4.3.2	Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) da região ITS e sequenciamento 19	
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5.1	Resultados	21
5.2	Discussão.....	30
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	33
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1 INTRODUÇÃO

Assim como na maioria dos organismos vivos, as abelhas sem ferrão possuem interações simbióticas e mutualísticas com diversos microrganismos. A microbiota associada às abelhas sem ferrão inclui bactérias, leveduras e fungos filamentosos em simbiose com a colônia. Neste sentido, dado à alta relevância destas abelhas do ponto de vista ecológico, muitas pesquisas lhes foram direcionadas ao longo dos anos, o que permitiu também novas descobertas sob a perspectiva biotecnológica, com destaque para o isolamento de microrganismos com diversos potenciais biotecnológicos. Dessa forma, o problema a ser solucionado nesse trabalho é saber quais gêneros e espécies de fungos filamentosos podem estar associados com três espécies de abelhas sem ferrão, criadas em meliponário um mesmo local, e se existe alguma relação entre os isolados de cada espécie de abelha. Além disso, esses isolados representam espécies com potencial para aplicações biotecnológicas.

A diversidade de espécies de plantas floríferas depende principalmente do processo de polinização realizado por animais, aproximadamente 87,5% das múltiplas espécies existentes são resultado deste processo (OLLERTON et al., 2011). Estudos sobre a ação das abelhas no meio ambiente evidenciam a extraordinária contribuição desses insetos na preservação da vida vegetal e também na manutenção da variabilidade genética (NOGUEIRA, 1998). As abelhas são insetos que sustentam os ecossistemas globais por meio do seu papel como polinizadores de áreas floridas, pomares, plantações, florestas inclusive vastas áreas nas grandes bacias hidrográficas (GRIMALDI e ENGEL, 2005).

Entre as abelhas sociais, além da conhecida *Apis mellifera*, estão as da tribo Meliponini, que agrupa vários gêneros de abelhas sem ferrão, estas possuem o ferrão atrofiado, por esse motivo o nome (LOPES et al, 2005). As abelhas sem ferrão eram as únicas produtoras de mel e as principais polinizadoras da flora nativa até 1838, antes da introdução da abelha européia no Brasil (KERR et al., 2001).

A distribuição das abelhas sem ferrão ocorre principalmente nas regiões tropicais do mundo (MICHENER, 2000). O Brasil apresenta aproximadamente 244 espécies de abelhas sem ferrão (Apidae), entre elas a *Tetragonisca Angustula* (Jataí) e a *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), e são espécies consideradas nativas do país (PEDRO, 2014).

No entanto, há uma falta de informações e conhecimentos sobre a biodiversidade fúngica relacionada às abelhas sem ferrão da Tribo Meliponini (SILVA et al., 2017). As abelhas são naturalmente associadas à microrganismos diversos, no qual os fungos muitas vezes são de ocorrência espontânea (GILLIAM, 1997), em contrapartida o desaparecimento de colônias de abelhas acarretou maiores interesses no conhecimento das comunidades microbiana relacionada a estes importantes polinizadores (MATTILA et al., 2012).

Em razão da importância ambiental, social e econômica, o conhecimento quanto ao comportamento, reprodução e sanidade das abelhas é indispensável para a preservação e manutenção da diversidade vegetal, a produção e comercialização de produtos e consequentemente a distribuição de rendas. O presente trabalho teve como o objetivo avaliar a presença de diferentes grupos de fungos associados a abelhas das espécies *Melipona fasciculata* (Tiúba cinzenta), *Melipona mondury* (Bugia), e *Melipona scutellaris* (Uruçu nordestina) que podem atuar como carreadoras de diversas espécies de fungos além de realizar a extração de DNA dos fungos isolados realizando sequenciamento da região ITS.

Fungos filamentosos podem ser isolados de diferentes biomas. Existem vários estudos que indicam que podem existir tipos específicos de fungos, dependendo do *habitat* e do organismo hospedeiro ou organismos que apresentam associação ecológica entre esses microrganismos. Normalmente, de acordo com a literatura, os microrganismos associados com meliponíneos estão envolvidos com as propriedades organolépticas do mel ou manutenção das colmeias. Muitos trabalhos de prospecção relatam diversos potenciais biotecnológicos desses fungos, como degradação de substâncias orgânicas à base de amido, celulose, lignina, etc. Espécies dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Trichoderma* são as mais frequentemente isoladas desses insetos. No entanto, a diversidade dos fungos isolados depende de outros fatores, como o local de criação das abelhas, o clima, por exemplo. Identificar as principais espécies de fungos associadas com as três espécies de abelhas sem ferrão será importante, não somente para a prospecção biotecnológica desses microrganismos, mas para compreender a ecologia das abelhas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Identificar diferentes grupos de fungos associados a abelhas das espécies *Melipona fasciculata* (Tiúba cinzenta), *Melipona mondury* (Bugia), e *Melipona scutellaris* (Uruçu nordestina).

2.2 Objetivos específicos

- Captura das abelhas, cultivo dos fungos, caracterização macro e microscópica, organização do estoque e das imagens;
- Extração do DNA de fungos selecionados, amplificação por PCR da região ITS1-4 e sequenciamento;
- Análise da frequência dos fungos encontrados em cada espécie de abelha.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Abelhas: agentes polinizadores essenciais

Os insetos pertencem ao filo dos artrópodes, constituído por mais de 900.000 diferentes espécies, considerado o maior grupo de animais que existe, o qual pode ser separado em várias Ordens, entre elas, o grupo que inclui as abelhas, formigas e as vespas, a ordem Hymenoptera. As abelhas podem ser agrupadas na superfamília Apoidea, que consiste em várias famílias, entre elas, a família Apidae é a que possui hábitos sociais mais desenvolvidos e apresenta 4 subfamílias: Apíneos, Meliponíneos, Bombíneos e Euglossíneos. A maioria das outras Apoidea são abelhas insociáveis ou abelhas com hábitos sociais básicos (NOGUEIRA-NETO, 1997). As abelhas da família Apidae, apresentam uma concavidade nas tibias das patas traseiras, denominada corbícula, onde o pólen ou outro material é embarcado para o ninho, além disso, é considerada como uma família com elevados hábitos sociais. Na família Apidae, pode-se destacar uma classe de abelhas que possui grande importância devido à sua natureza comportamental e produtiva, essas abelhas são conhecidas como abelhas sem ferrão ou meliponíneos (WIELEWSKI, 2018).

Durante a evolução, as abelhas sociais locais perderam a habilidade de ferroar à medida que seus ferrões se deterioraram (NOGUEIRA-NETO, 1997). Porém, as abelhas não abandonaram a capacidade de defender seus ninhos, exibindo vários mecanismos para isso, como se enrolar em torno de cabelos e pelos, beliscar a pele do intruso com suas maxilas e em algumas classes podem até provocar feridas, pode-se citar como exemplo o gênero *Oxytrigona*, que adentram as narinas e ouvidos dos invasores, bem como liberam resinas vegetais ou matérias cáusticas em seus pêlos (OLIVEIRA et al., 2013).

A família dos meliponíneos foram inicialmente manipuladas especificamente por povos indígenas (FABICHAK, 1989), dessa forma, são comumente intituladas como abelhas indígenas sem ferrão. A abelha sem ferrão é um excelente polinizador, amplamente utilizada para esse fim em estufas e cultivos (CAUICH et al., 2006). Dessa forma, pode-se considerar que as abelhas apresentam grande importância para a conservação da grande variedade de seres vivos presentes na natureza e também para manter o equilíbrio da

interdependência entre seres vivos e meio ambiente (STUCHI; TAKASUSUKI; TOLEDO, 2008).

É uma visita flor a flor para colher alimentos que as abelhas realizam a polinização, um trabalho crucial no qual o valor econômico não é conhecido por muitos. Além disso, as abelhas também provêem produtos que são comercialmente importantes para os humanos, como pólen, própolis e cera de abelha (WITTER et al., 2014).

Os locais habitados pelas abelhas são diversos, pode-se citar as savanas, matas tropicais, desertos, praias e regiões montanhosas. Tal diversidade de climas e variedades de vegetação têm favorecido a construção de distintos gêneros de abelhas, bem adequadas a diferentes ambientes específicos (RAMOS; CARVALHO, 2007). Além disso, as abelhas também possuem diversos locais de nidificação, geralmente elas escolhem caules ocos (ZMITROWICZ, 2001). As fissuras e fendas da colmeia são recobertas por uma matéria resinosa gerada pelas abelhas ao colher metabólitos secundários de um conjunto de espécies vegetais em uma determinada área, conhecido como própolis (BARTH; DUTRA; ACURADO, 1999). Dessa forma, além de oferecer proteção, também é possível manter a temperatura e a umidade dentro do ninho (ZMITROWICZ, 2001).

Os ninhos da família dos Meliponíneos são constituídos de vários materiais, tanto com elementos encontrados na natureza bem como outros materiais originados através das abelhas, como a cera. Para completar esta categorização resumida, deve-se considerar também os tipos mistos, como o cerume, que consiste em uma mistura de resina (própolis) que as abelhas coletam de árvores ou arbustos danificados e de cera de abelhas (NOGUEIRA-NETO, 1997).

3.2 *Melipona fasciculata*

A *M. fasciculata*, conhecida popularmente como Tiúba cinzenta, é uma das espécies de abelhas pertencentes ao grupo dos Meliponíneos. Sua ocorrência é predominante nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, onde tem ganhado destaque tanto pela relevância ecológica quanto pelo potencial econômico. A espécie se sobressai por sua elevada capacidade produtiva e por sua notável adaptação a ambientes adversos, como estufas agrícolas, onde tem sido utilizada na polinização de cultivares pertencentes à família das Solanaceae (NUNES-SILVA et al., 2013). Além de sua importância na polinização, os

produtos derivados da espécie, como o mel e o geoprópolis, vêm despertando grande interesse no mercado nacional devido às suas propriedades medicinais, o que tem motivado os criadores a investir na valorização dessa abelha (DUTRA et al., 2008; DUTRA et al., 2009; LIBERIO et al., 2011).

Entre essas espécies, destaca-se a tíuba, *Melipona fasciculata* Smith, 1854, por sua elevada produtividade em relação a outras abelhas nativas, configurando-se como uma excelente alternativa de geração de renda para os produtores da região Meio-Norte do Brasil (MACHADO et al., 2010).

3.3 *Melipona scutellaris*

A abelha urucu (*Melipona scutellaris*), amplamente distribuída na região Nordeste do Brasil (SOUZA; BAZLEN, 1998), destaca-se por produzir um mel de excelente qualidade, apresentar colônias populosas, possuir hábitos higiênicos e ser de fácil manejo, características que conferem vantagens em relação a outras espécies de meliponíneos. Além disso, essa abelha contribui significativamente para a polinização da flora nativa, sendo responsável por aproximadamente 40% a 90% desse processo (SOUZA et al., 1998).

Apesar da importância das abelhas sem ferrão, ainda são escassas as informações sobre diversas espécies, principalmente no que diz respeito aos seus hábitos, reprodução e aspectos sanitários. Estudar a biologia dessas abelhas, especialmente sua microbiota fúngica, é fundamental, uma vez que microrganismos oportunistas podem causar doenças quando as defesas naturais dos insetos estão comprometidas (PANTOJA, 2014).

Stuart et al. (2004) identificaram alguns fungos presentes na microbiota de meliponíneos, como *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp. e *Acremonium* spp.. A identificação desses fungos filamentosos baseia-se na análise de suas estruturas reprodutivas, métodos de produção de conídios, além de características como cor, forma, tamanho, tipos de hifas e morfologia das colônias (CRUZ, 1985).

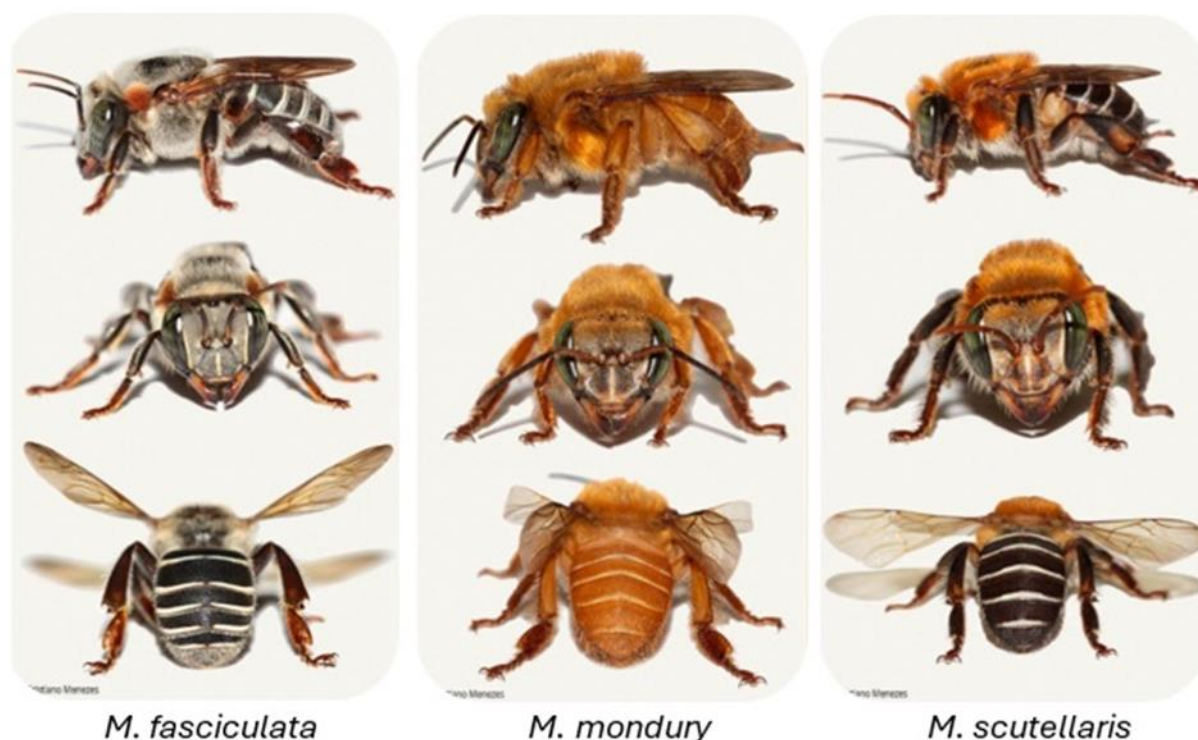
Há uma diversidade considerável de microrganismos associados às abelhas sem ferrão, incluindo bactérias (CRUZ-LANDIM, 1996), fungos e leveduras. Em geral, esses organismos ocorrem naturalmente (GILLIAM, 1997), embora muitos ainda permaneçam desconhecidos (ELTZ et al., 2002).

Esses polinizadores estão constantemente expostos a uma ampla gama de parasitas e patógenos, como fungos, ácaros, bactérias e insetos (GILLIAM, 1997). O aumento recente na perda de colônias de abelhas tem intensificado o interesse pela compreensão das comunidades microbianas associadas a esses organismos de grande importância ecológica (MATTILA et al., 2012).

A *M. scutellaris* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), conhecida popularmente como uruçú verdadeira — do tupi “eiru'su”, que significa “abelha grande” (WEBBEE, 2014) — é uma espécie nativa da Mata Atlântica do Nordeste brasileiro. Sua criação tem se destacado especialmente nos estados de Pernambuco e Bahia (CARVALHO; ZANELLA, 2017).

Conforme observado na figura 1, essa espécie se diferencia das demais do gênero pelo seu porte avantajado, coloração escura na face, presença de linhas brancas nos bordos da placa de quitina dorsal e pelos do tórax com coloração ferrugínea amarelada (CARVALHO; ZANELLA, 2017). A *M. scutellaris* desempenha um papel fundamental na polinização da flora nativa da Mata Atlântica nordestina, sendo responsável por cerca de 30% a 90% desse processo (SILVEIRA et al., 2002; BALLIVIÁN et al., 2008; SANTOS, 2010). Além do valor ecológico, sua criação no Nordeste também proporciona impactos sociais positivos por meio da produção de mel (SILVEIRA et al., 2002; SILVA PAZ, 2012; BARBOSA et al., 2018).

FIGURA 1 - ABELHAS UTILIZADAS NO TRABALHO



Fonte: Adaptado de: Abelhas (Associação Brasileira de Estudos das abelhas).

3.4 *Melipona mondury*

Melipona mondury Smith 1863, foi diferenciada de *Melipona rufiventris* Lepeletier, 1836 por Melo (2003). Popularmente conhecida como mondury, tuiuva, tujuva, tujuba, manduri, mondiri, uruçú-amarela ou bugia, essa espécie ocorre no domínio morfoclimático da Mata Atlântica, abrangendo os estados da Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Santa Catarina. É encontrada, predominantemente, em florestas úmidas situadas abaixo de 400 metros de altitude (SOUSA et al., 2012).

A *M. mondury* habita áreas preservadas da mata, localizadas em grandes fragmentos florestais em estágios sucessionais avançados (VIANA et al., 2015), e apresenta comportamento relativamente generalista em suas interações com espécies vegetais (GEUSTER, 2019). Segundo Nogueira-Neto (1970), a espécie nidifica em ocos de árvores, cujos ninhos apresentam entrada formada por raios de barro convergentes, permitindo a passagem de apenas uma abelha por vez. Além disso, seus ninhos são estruturados com batume e calafetados com geoprópolis — uma mistura de própolis com barro.

Em Santa Catarina, sua ocorrência foi registrada nos municípios de Blumenau e São Bento do Sul (MOUGA, 2009), São Francisco do Sul (MOUGA; NOGUEIRA-NETO, 2015), Florianópolis e Indaial (MOUGA; DEC, 2015). A espécie é considerada eficiente na produção de mel e pólen na Região Sul do Brasil, além de possuir importância ecológica por sua atuação na polinização e nos serviços ambientais primários (GEUSTER, 2019).

M. mondury está classificada como espécie vulnerável na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas de Santa Catarina (CONSEMA, 2011). Compreender sua ecologia é fundamental para subsidiar estratégias de conservação, bem como práticas de manejo voltadas à polinização e à produção de mel.

4 METODOLOGIA

Um resumo da metodologia utilizada no trabalho está esquematizado na Figura 1.

FIGURA 2 - DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA METODOLOGIA REALIZADA



Fonte: Adriana Fiorini Rosado. Plataforma Canva.(2025).

4.1 Coleta, inoculação e isolamento dos fungos

A coleta das abelhas foi realizada em 21 de setembro de 2024 em uma residência de um criador, no centro de Palotina, Oeste do Estado do Paraná. As amostras fúngicas foram coletadas de colméias de três espécies de abelhas sem ferrão, *Melipona fasciculata* (Tiúba cinzenta), *Melipona mondury* (Bugia), e *Melipona scutellaris* (Uruçu nordestina) (FIGURA 2). Foram coletadas dez abelhas de cada uma das três espécies.

As abelhas foram coletadas ao saírem das colméias, com o auxílio de uma rede de captura de insetos (15 cm de diâmetro). Exemplos das colméias estão mostrados na Figura 3.

FIGURA 3 - EXEMPLOS DAS COLMEIAS DAS ABELHAS COLETADAS NESSE ESTUDO



Fonte: Luisa Renata M. Hugen (2025).

Após a coleta, foram instantaneamente colocadas em tubos cônicos estéreis e identificados, e em seguida encaminhadas para o Núcleo Experimental de Micologia Aplicada - NEMA (Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina). As amostras foram colocadas em freezer (-20°C) por 5 minutos para facilitar o manuseio das abelhas, em seguida foi realizada a transferência das abelhas durante 30 minutos em placas de Petri contendo Ágar Batata Dextrose (BDA), Figura 4.

FIGURA 4 - ABELHAS TRANSFERIDAS PARA AS PLACAS DE PETRI CONTENDO BDA



Fonte: Luisa Renata M. Hugen (2025).

Após 30 minutos, as abelhas foram retiradas das placas de Petri em condições assépticas, e devolvidas ao meliponário de onde foram capturadas. As placas foram incubadas em estufa de crescimento à temperatura de 28°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 5 dias, condições consideradas ideais para o crescimento de fungos.

A partir das colônias presentes nas placas que receberam as abelhas, foi realizado o repique das colônias para placas de Petri esterilizada contendo BDA em condições assépticas, em uma capela de fluxo laminar. Com o auxílio de uma alça de sementeira, pequenos fragmentos das colônias de interesse foram retirados e transferidos para placas de Petri esterilizadas. Em seguida, as placas contendo o repique foram mantidas em estufa de crescimento durante 5 dias à temperatura de 28°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$). Após o crescimento micelial, as placas que apresentaram contaminação foram repicadas novamente em placas de Petri BDA até que se obtivessem culturas axênicas.

4.2 Identificação macroscópica e microscópica dos fungos

As culturas fúngicas foram analisadas quanto às características macroscópicas como a cor, textura e tamanho. A identificação microscópica dos fungos foi realizada, no primeiro momento, através do preparo de lâminas com a técnica da fita adesiva. Nessa técnica, fragmentos do micélio fúngico foram coletados, com auxílio de uma fita celofane transparente adesiva, e transferidos para lâminas de microscopia contendo uma gota de corante lactofenol azul de algodão. As imagens foram observadas no microscópio óptico Nikon Eclipse Ei nos aumentos de 400 e 1000x.

Para uma análise definitiva e observação dos esporos de reprodução assexuados, foi realizado o microcultivo. Nessa técnica utilizou-se um sistema formado por duas lâminas de microscopia, forradas por um papel filtro dispostas no interior de uma placa de Petri estéril. Com o auxílio de um bisturi, fragmentos de BDA de aproximadamente 1 cm² foram cortados e depositados sobre a lâmina. Fragmentos dos micélios fúngicos foram coletados, com auxílio de uma alça microbiológica, e depositados nas quatro extremidades do bloco de ágar. O papel filtro foi umedecido com água destilada estéril e as placas foram incubadas em estufa à 30°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) durante 5 dias. Após o período de incubação, as lamínulas, contendo os micélios fúngicos, foram transferidas para uma nova lâmina contendo o corante lactofenol azul de algodão. As imagens foram obtidas no microscópio Nikon Eclipse Ei, nos aumentos de 400 e 1000x.

4.3 Identificação molecular dos fungos

4.3.1 Extração do DNA

A identificação molecular foi realizada para amostras selecionadas com base na dificuldade de identificação do gênero e a confirmação do gênero e espécie. Para a extração do DNA, de 100 a 200 mg dos micélios, a partir de culturas em BDA, foi transferido para microtubos de 1,5ml. Foram adicionadas seis pérolas de vidro e as amostras foram homogeneizadas em vórtex por 1 minuto, para a lise das células. O lisado foi recuperado e

processado de acordo com as instruções do fornecedor, utilizando o kit comercial *Plant/Fungi DNA Isolation* (Norgen Biotek Corporation). O DNA extraído foi avaliado quanto à sua pureza e concentração em espectrofotômetro 2000® (Thermo Fisher), observou-se a absorbância a 260 e 280 nm, além das relações 260/280 nm e 260/230 nm. Um total de 2 µl do DNA extraído juntamente com 2 µl do corante Safer (Kasvi) foi aplicado nos poços de um gel de agarose a 1,5% em tampão TBE 1X (Tris-base 90 mM, ácido bórico 90 mM, EDTA 2 mM pH 8,0).

4.3.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) da região ITS e sequenciamento

Após a extração, a região do espaçador transcricional interno (ITS1-4) do rDNA ITS1-5.8S- ITS2 (MIRHENDI et al., 2006) foi amplificada, pela técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), seguindo a recomendação do kit *GoTaq Master Mix* (Promega), em uma reação de 25 µl contendo aproximadamente 150 ng do DNA genômico, 0,4 µM do iniciador *forward* ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') e do iniciador reverse ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'), 0,2 mM de cada dNTP, 1,5mM de MgCl₂ e 1 U de *GoTaq* DNA Polimerase no tampão apropriado da enzima. As condições de ciclagem foram: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos; 25 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 55°C por 45 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto; com extensão final a 72°C por 7 minutos, em termociclador. Um total de 2 µl de cada reação de PCR, juntamente com 2 µl do corante Safer (Kasvi) foi aplicado nos poços de um gel de agarose a 1,5% em tampão TBE 1X (Tris-base 90 mM, ácido bórico 90 mM, EDTA 2 mM pH 8,0), para confirmação do tamanho, em pares de bases, dos *amplicons* e viabilidade das amostras. A amplificação da região ITS, com os iniciadores utilizados neste trabalho produziu um amplicon de aproximadamente 600 pb. Foi utilizado o padrão de tamanho molecular 100 pb (Kasvi). Após a corrida eletroforética (corrente constante de 80 mA por cerca de 45 minutos, com o tempo variando conforme o tamanho do gel). O gel foi fotodocumentado utilizando o equipamento KASVI (luz led).

Para a realização do sequenciamento molecular, uma alíquota de 10 µl da reação de PCR foi seca em estufa a 50°C e enviadas para a empresa Ludwig Biotecnologia LTDA, Alvorada-RS, para a realização do sequenciamento. Foi utilizado o sequenciador automático ABI-Prism 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Com as sequências geradas, o eletroferograma foi gerado utilizando o software BioEdit Sequence Alignment

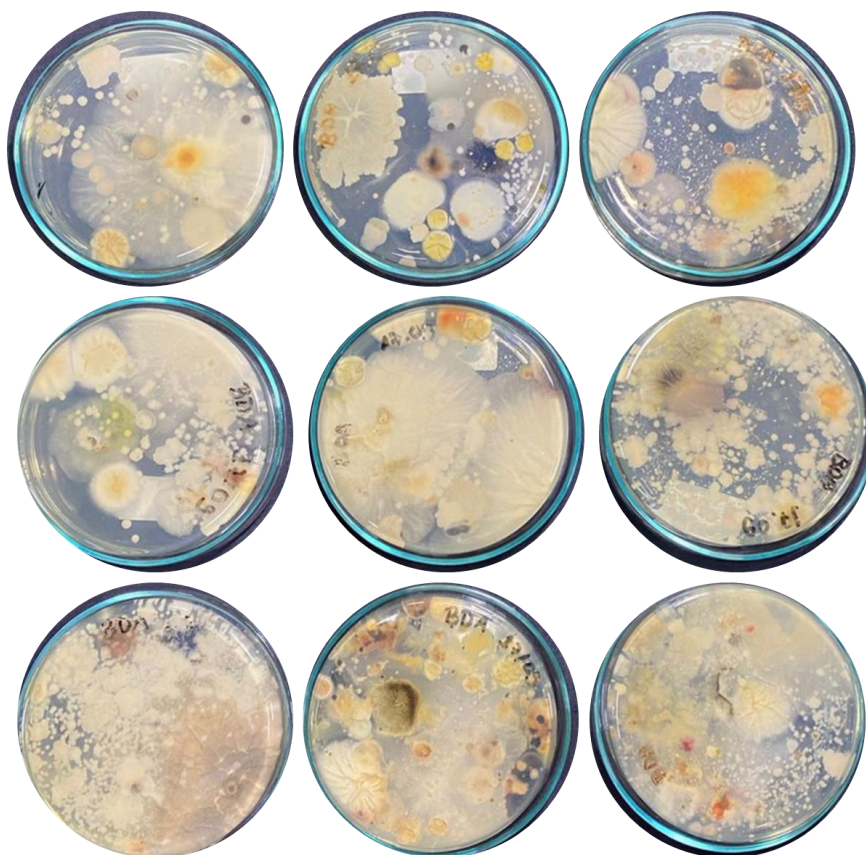
Editor (1997- 2013) e os resultados do sequenciamento foram comparados com as sequências depositadas no banco de dados GenBank, NCBI (*National Center for Biotechnology*), através da ferramenta BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool* – versão 2.215 do BLAST 2.0). O critério adotado para interpretação foi de que sequências com identidade $\geq 99\%$ são consideradas como pertencentes à mesma espécie e gênero; sequências $\geq 98\%$ pertencem ao mesmo gênero, porém representam variação dentro da espécie; e sequências $\geq 95\%$ e inferiores a 98% pertencem apenas ao mesmo gênero (GODINHO et al., 2013).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

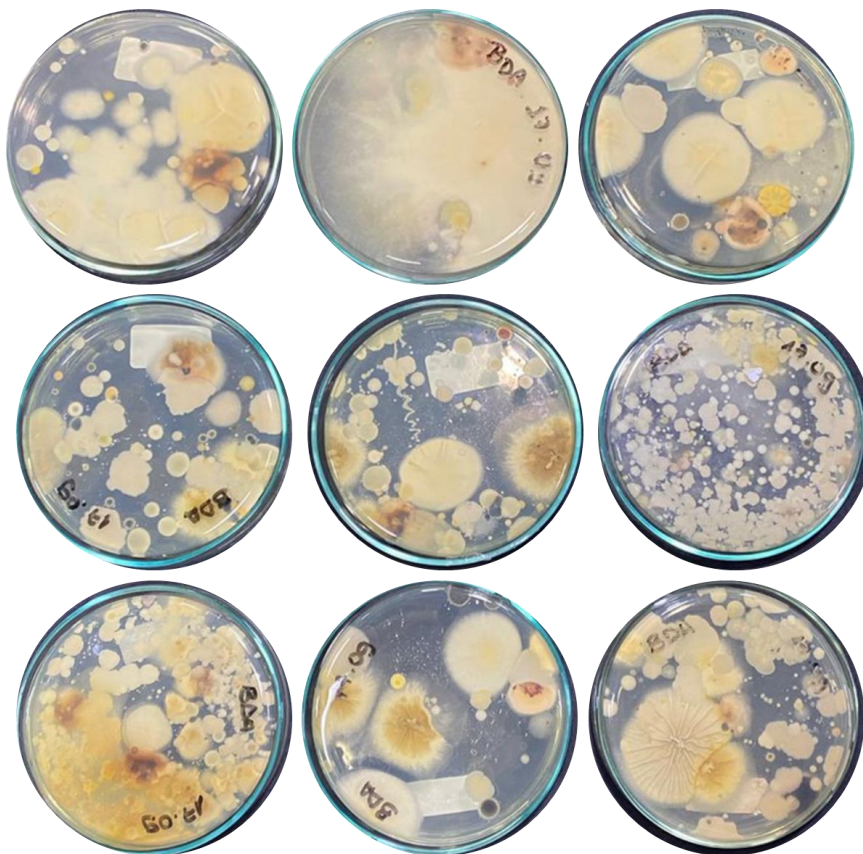
5.1 Resultados

Após o tempo de incubação, as placas de cultura foram analisadas e os resultados, para as abelhas *M. fasciculata*, *M. mondury* e *M. scutellaris*, estão apresentados nas Figuras 5, 6 e 7, respectivamente. Em todas as placas foi possível verificar o crescimento de colônias fúngicas. As principais colônias, considerando o maior tamanho e maior prevalência, foram selecionadas e repicadas para novas placas de BDA. Foi possível observar uma similaridade nas características coloniais dos fungos observados para cada abelha e a maior variabilidade foi observada nas culturas obtidas de *M. fasciculata*, o que foi determinante para a seleção dos fungos.

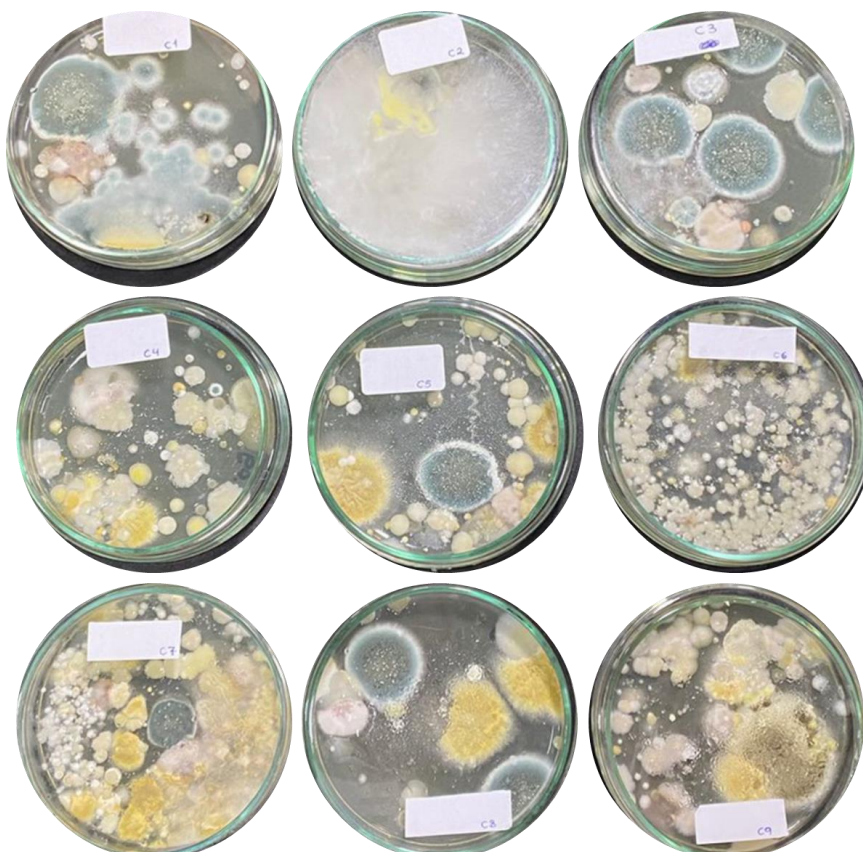
FIGURA 5 - CULTURAS OBTIDAS DAS ABELHAS *Melipona fasciculata*



Fonte: os autores (2025).

FIGURA 6 - CULTURAS OBTIDAS DAS ABELHAS *Melipona mondury*

Fonte: os autores (2025).

FIGURA 7 - CULTURAS OBTIDAS DAS ABELHAS *Melipona scutellaris*

Fonte: os autores (2025)

Foram isoladas várias colônias fúngicas das culturas e um total de dezessete foram selecionadas de *M. fasciculata*, nove de *M. mondury* e cinco de *M. scutellaris* (Tabela 1). A frequência de cada fungo encontrado está apresentada na Figura 8.

Entre as amostras de *M. fasciculata* foram identificados os gêneros de fungos: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, e *Trichoderma*. Para *M. mondury* foram encontrados os gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Trichoderma* e *Penicillium* e para *M. scutellaris* foram identificados os gêneros *Alternaria*, *Lasiodiplodia*, *Paecilomyces* e *Penicillium*.

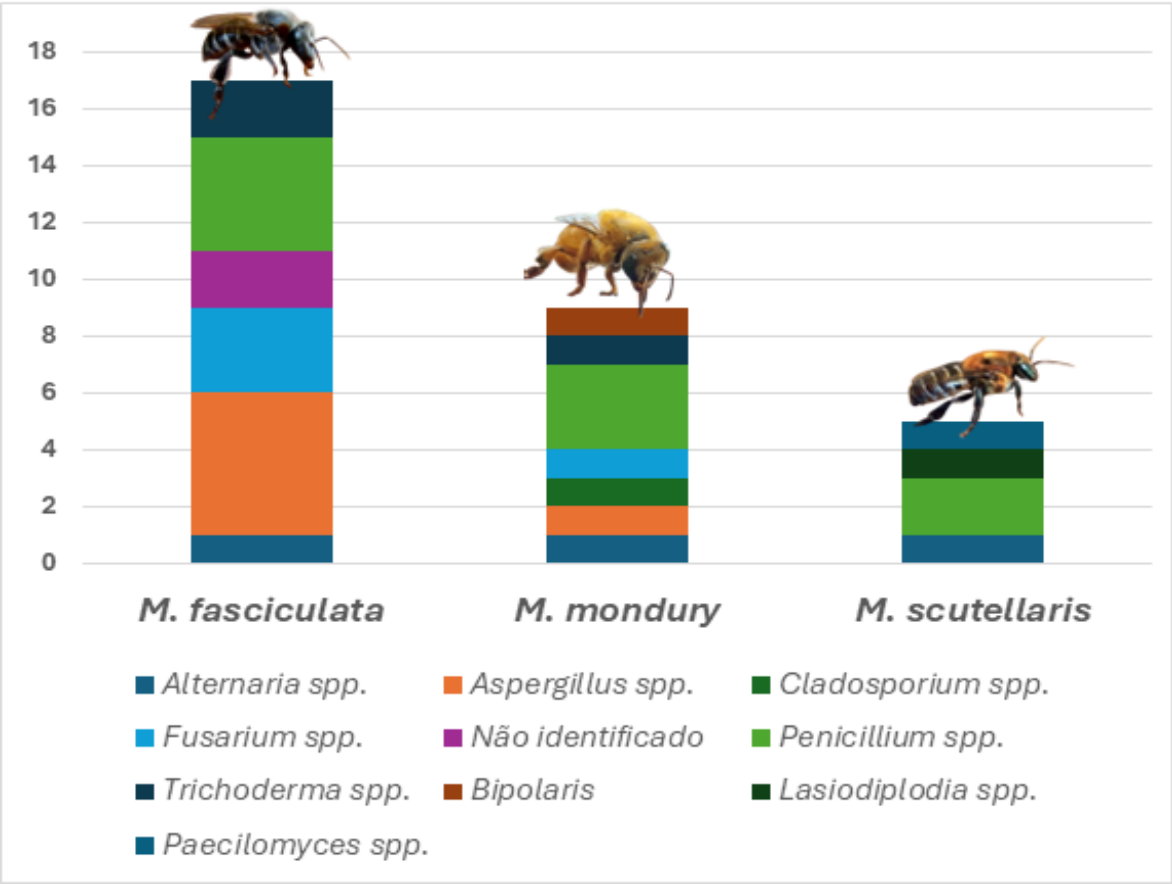
TABELA 1: GÊNERO DE FUNGOS ISOLADOS DAS ABELHAS

<i>Melipona fasciculata</i> (Tiúba cinzenta)		<i>Melipona mondury</i> (Bugia)		<i>Melipona scutellaris</i> (Uruçú nordestina)	
Código	Fungo	Código	Fungo	Código	Fungo
A1.1	<i>Aspergillus</i> sp.	B1.2	<i>Alternaria</i> sp.	C2.1	<i>Lasiodiplodia</i> sp.
A1.2	<i>Fusarium</i> sp.	B1.3	<i>Fusarium</i> sp.	C3.1	<i>Alternaria</i> sp.
A2.2	<i>Alternaria</i> sp.	B2.1	<i>Penicillium</i> sp.	C5.1	<i>Paecilomyces</i> sp.
A2.3	<i>Penicillium</i> sp.	B7.1	<i>Penicillium</i> sp.	C5.3	<i>Penicillium</i> sp.
A3.1	<i>Aspergillus</i> sp.	B7.3	<i>Cladosporium</i> sp.	C5.4	<i>Penicillium</i> sp.
A3.2	<i>Fusarium</i> sp.	B8.1	<i>Bipolaris</i> sp.		
A3.3	<i>Penicillium</i> sp.	B8.2	<i>Aspergillus</i> sp.		
A3.4	<i>Aspergillus</i> sp.	B9.1	<i>Penicillium</i> sp.		
A3.5	Não identificado	B9.2	<i>Trichoderma</i> sp.		
A3.6	<i>Aspergillus</i> sp.				
A4.1	<i>Penicillium</i> sp.				
A4.3	Não identificado				
A4.4	<i>Trichoderma</i> sp.				
A5.1	<i>Penicillium</i> sp.				
A6.2	<i>Fusarium</i> sp.				
A8.1	<i>Trichoderma</i> sp.				
A8.2	<i>Aspergillus</i> sp.				
Total	17		9		5

Legenda: As amostras em negrito foram selecionadas para as análises moleculares.

Fonte: os autores (2025).

FIGURA 8 - FREQUÊNCIA DOS FUNGOS ENCONTRADOS EM CADA ABELHA

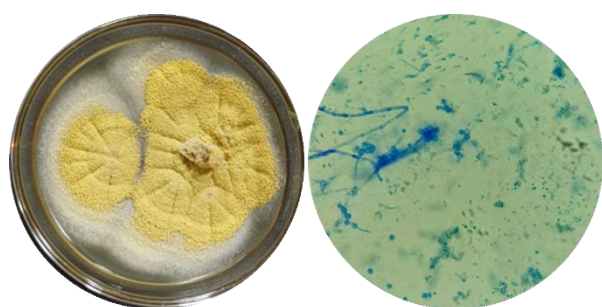


Fungo	Frequência por abelha			
	M. fasciculata	M. mondury	M. scutellaris	Total gêneros
Alternaria spp.	1	1	1	3
Aspergillus spp.	5	1	0	6
Cladosporium spp.	0	1	0	1
Fusarium spp.	3	1	0	4
Não identificado	2	0	0	2
Penicillium spp.	4	3	2	9
Trichoderma spp.	2	1	0	3
Bipolaris spp.	0	1	0	1
Lasiodiplodia spp.	0	0	1	1
Paecilomyces spp.	0	0	1	1
Total	17	9	5	31

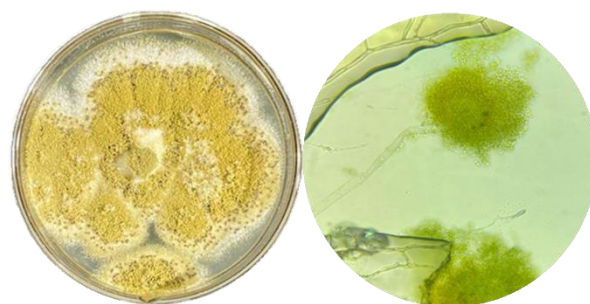
Fonte: os autores (2025).

As principais estruturas microscópicas estão ilustradas nas Figuras 9 e 10 para os fungos isolados de *M. fasciculata*, Figura 11 para *M. mondury* e Figura 12 para *M. scutellaris*.

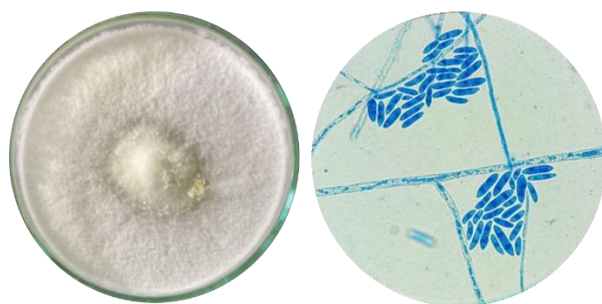
FIGURA 9 - ASPECTOS MACRO E MICROMORFOLÓGICOS DOS FUNGOS ISOLADOS DA ABELHA *Melipona fasciculata*



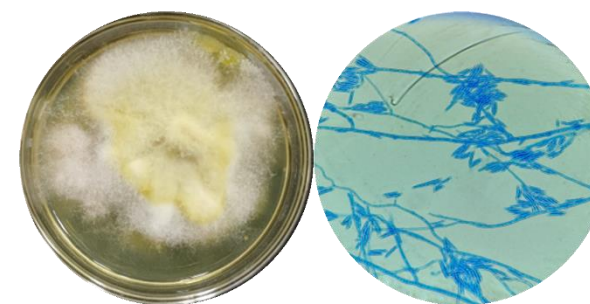
A1.1 *Aspergillus ochraceus*



A3.1 *Aspergillus* sp.



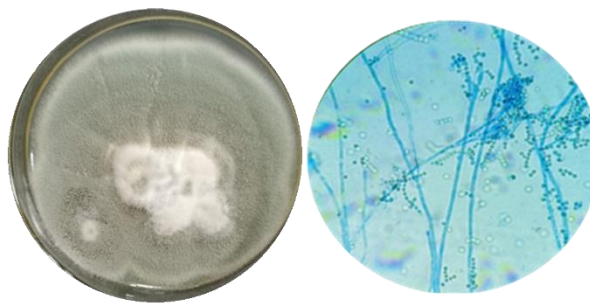
A1.2 *Fusarium 'incarnatum-equiseti'*



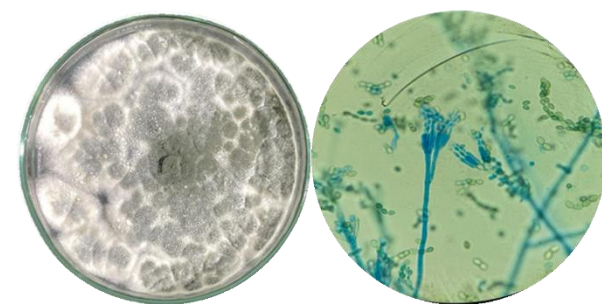
A3.2 *Fusarium* sp.



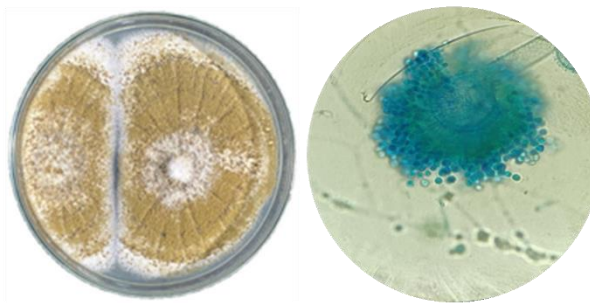
A2.2 *Alternaria* sp.



A3.3 *Penicillium* sp.



A2.3 *Penicillium* sp.



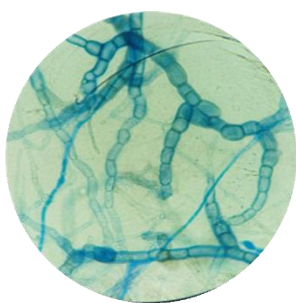
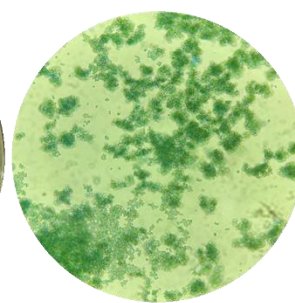
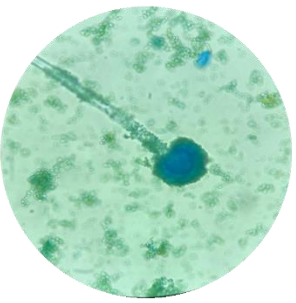
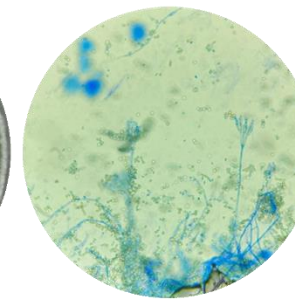
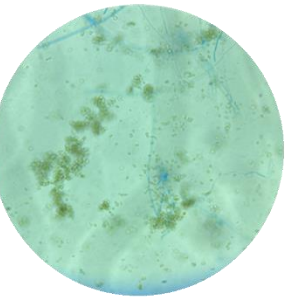
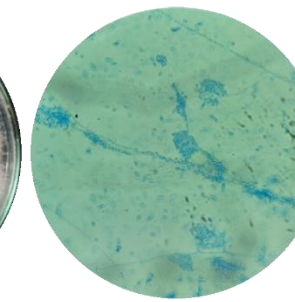
A3.4 *Aspergillus* sp.

Fonte: os autores (2025).

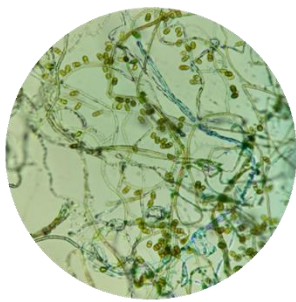
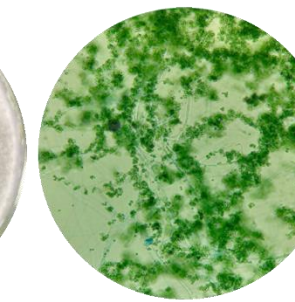
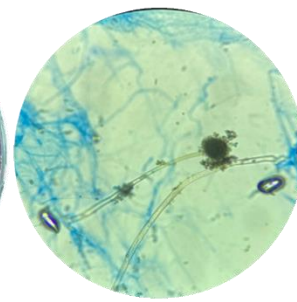
FIGURA 10 - ASPECTOS MACRO E MICROMORFOLÓGICOS DOS FUNGOS ISOLADOS DA ABELHA

Melipona fasciculata (continuação)

A3.5 Não identificado

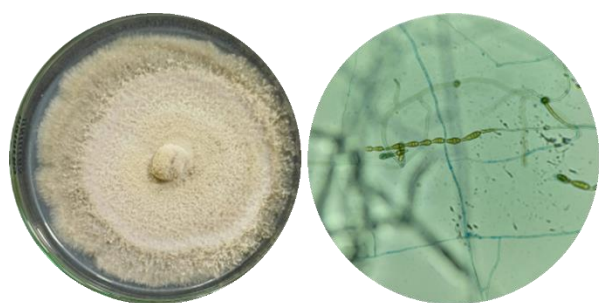
A4.4 *Trichoderma* sp.A3.6 *Aspergillus* sp.A5.1 *Penicillium* sp.A4.1 *Penicillium oxalicum*A6.2 *Fusarium* sp.

A4.3 Não identificado

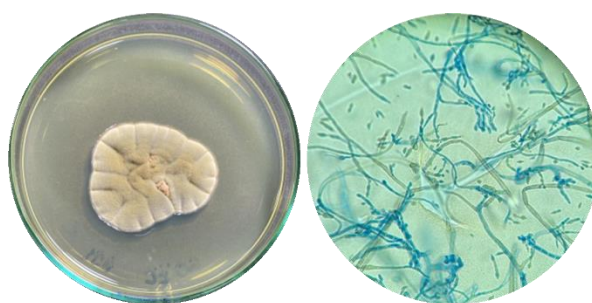
A8.1 *Trichoderma* sp.A8.2 *Aspergillus* sp.

Fonte: os autores (2025).

FIGURA 11 - ASPECTOS MACRO E MICROMORFOLÓGICOS DOS FUNGOS ISOLADOS DA ABELHA
Melipona mondury



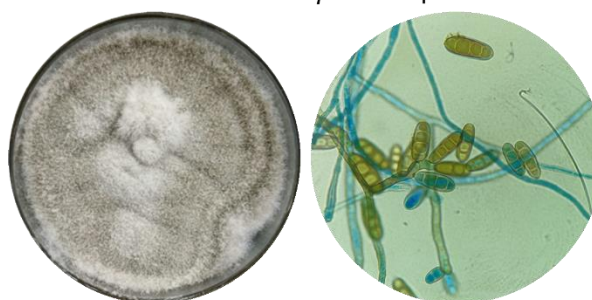
B1.2 *Alternaria* sp.



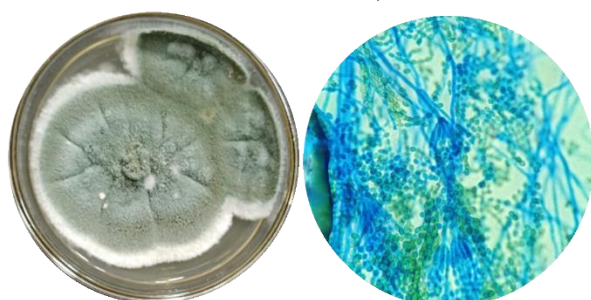
B7.3 *Cladosporium* sp.



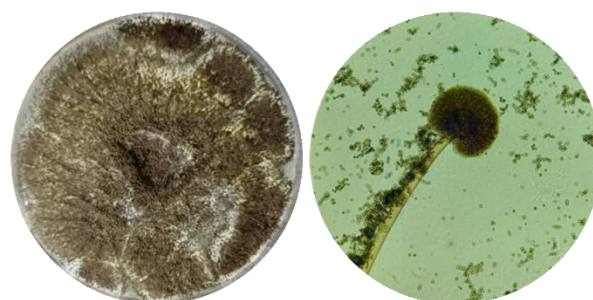
B1.3 *Fusarium* sp.



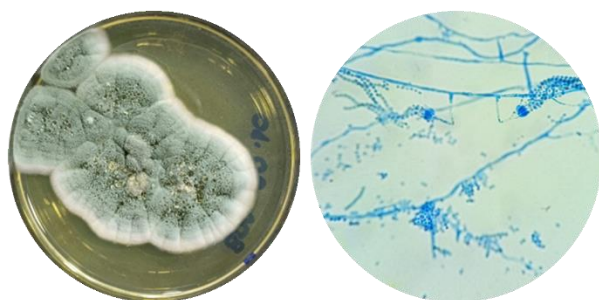
B8.1 *Bipolaris* sp.



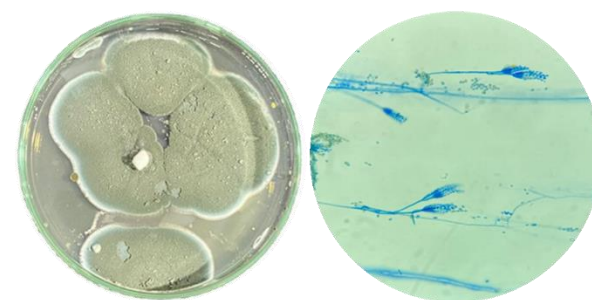
B2.1 *Penicillium* sp.



B8.2 *Aspergillus niger*



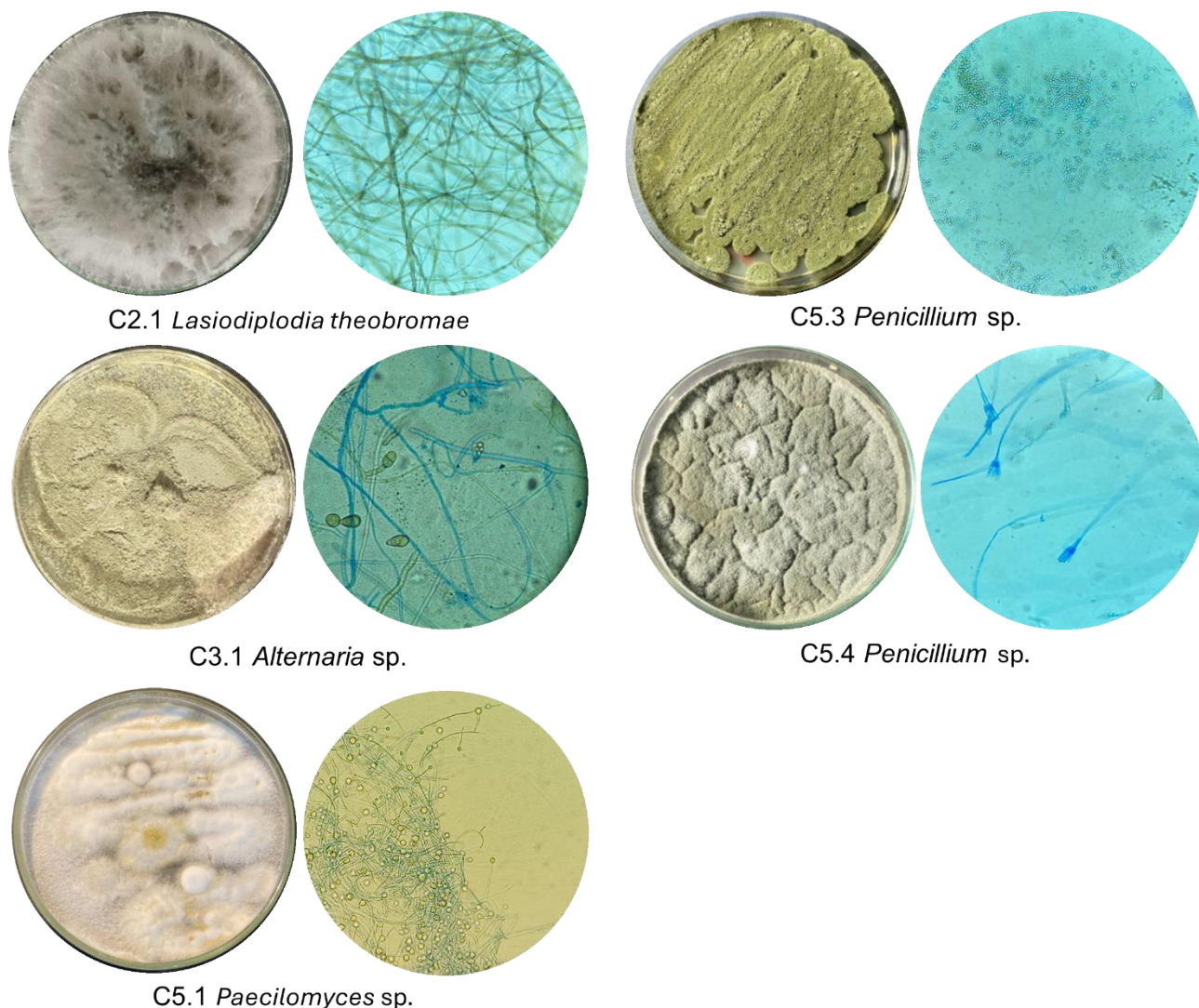
B9.1 *Penicillium* sp.



B9.2 *Trichoderma* sp.

Fonte: os autores (2025).

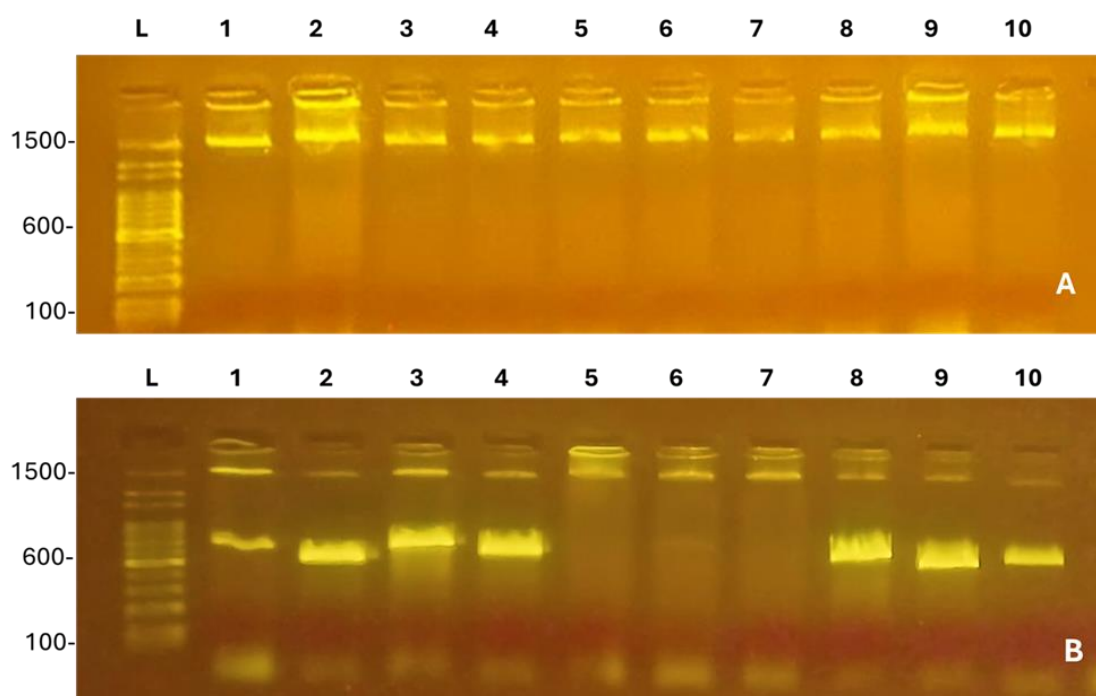
FIGURA 12 - ASPECTOS MACRO E MICROMORFOLÓGICOS DOS FUNGOS ISOLADOS DA ABELHA
Melipona scutellaris



Fonte: os autores (2025).

Alguns fungos foram selecionados para a identificação molecular. O DNA obtido foi analisado através de eletroforese em gel de agarose e a região ITS1-4 foi amplificada por PCR (Figura 13). As amostras A6.2, B1.3, B9.2 (poços 5, 6 e 7, do gel B) não apresentaram amplificação. Foram excluídas do sequenciamento apenas as amostras A6.2 e B1.3, pois a amostra B9.2 estava duplicada na análise.

FIGURA 13 - ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE DO DNA GENÔMICO DOS FUNGOS E PRODUTOS DA PCR DA REGIÃO ITS



Legenda: Gel A: DNA genômico. Gel B: produtos de PCR da amplificação da região ITS1-4. Poços 1 a 10 (Amostras A1.1, A3.2, A4.1, A4.4, A6.2, B1.3, B9.2, B9.2, C2.1, C5.1.), respectivamente. Letra L: DNA ladder 100 pb.

Fonte: Os autores (2025).

As sequências obtidas após o sequenciamento da região ITS1-4 foram analisadas através da plataforma de bioinformática *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST), do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) e os gêneros e espécies identificados estão apresentadas na Tabela 2.

TABELA 2 - IDENTIFICAÇÃO DE 7 ISOLADOS DE FUNGOS FILAMENTOSOS POR SEQUENCIAMENTO DA REGIÃO ITS DO rDNA.

Amostra	Identificação	% de similaridade	Referência do GenBank
A1.1	<i>Aspergillus ochraceus</i>	98.90%	MT990727.1
A3.2	<i>Fusarium 'incarnatum-equiseti'</i>	99.60%	PP422000.1
A4.1	<i>Penicillium oxalicum</i>	99.63%	MT529129.1
A4.4	<i>Trichoderma</i> sp.	99.64%	KP009339.1
B9.2	<i>Trichoderma</i> sp.	99.82%	PV348611.1
C2.1	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	100.00%	OR116079.1
C5.1	<i>Paecilomyces</i> sp.	99.82%	AB217858.1

Fonte: Os autores (2025).

5.2 Discussão

Os resultados apresentados nesse trabalho indicam que houve uma predominância dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* entre as abelhas estudadas. Os demais gêneros mais abundantes foram *Fusarium*, *Alternaria* e *Trichoderma*. As abelhas coletam pólen das flores e o armazenam nas patas traseiras (abelhas melíferas) ou nos pêlos da parte ventral do abdômen (abelhas pedreiras vermelhas). Assim, a troca de microrganismos entre flores e abelhas é inevitável (THAMM et al., 2023). Os recursos florais são a principal fonte de alimento para a maioria das espécies de abelhas, portanto, segundo Rutkowski, Weston e Vannette (2023), as espécies fúngicas encontradas no néctar e no pólen contribuem diretamente para as comunidades em ninhos e no trato gastrointestinal das abelhas. Muitos dos fungos mais comumente isolados de ninhos e corpos de abelhas também são habitantes frequentes do néctar e do pólen florais, e provavelmente são provenientes de plantas.

Os benefícios dos simbiossiontes fúngicos nas abelhas incluem auxiliar na degradação do pólen e na maturação da geleia real; além disso, os fungos também podem servir como fontes de alimento para as abelhas (de PAULA et al., 2021). Em um recente estudo, Rutkowski, Weston e Vannette (2023) publicaram uma revisão sobre os principais táxons fúngicos mais comumente associados às abelhas, as diferenças nas comunidades fúngicas entre as diversas espécies de abelhas e seus habitats, as possíveis vias de aquisição desses fungos e seus efeitos no comportamento, sobrevivência e reprodução das abelhas. Além disso, as autoras discutem as evidências da interrupção dessas associações por fungicidas e as lacunas atuais na compreensão das interações entre abelhas e fungos. Ainda de acordo com as autoras, a taxonomia fúngica é complexa e variável, o que representa um desafio à comparação de dados históricos e atuais sobre a comunidade fúngica. Com a recente disponibilidade de métodos filogenéticos baseados em genes ou genomas, muitos nomes históricos de fungos, incluindo nomes de gêneros, foram revisados.

Assim como encontrado neste trabalho, o filo Ascomycota tem sido o mais relatado pelos autores, entre os fungos isolados de abelhas (CASTILHO et al., 2024). Similarmente, Liu et al. (2023) identificaram Ascomycota e Basidiomycota como os filos mais dominantes, juntamente com Chytridiomycota e Mucoromycota, em abelhas sem ferrão australianas (*Tetragonula carbonaria* e *Austroplebeia australis*). No Brasil, fungos das espécies

Talaromyces e uma nova espécie de *Penicillium* foram descobertas em *M. scutellaris* (BARBOSA et al., 2018).

Além dos fungos filamentosos representantes do filo Ascomycota, as leveduras correspondem à uma grande parcela de fungos associados com abelhas (revisão em RUTKOWSKI, WESTON e VANNETTE, 2023). Apesar de nesse trabalho terem sido observadas colônias características de leveduras, elas não foram incluídas nesse estudo. Fungos filamentosos (bolors), diferentemente das leveduras, podem crescer em uma vasta gama de fontes de açúcares, incluindo polissacarídeos complexos (BENNETT 2009). Os fungos podem ser carregados pelas abelhas após contato com néctar e pólen das flores, flores, néctar, colmeia ou outras abelhas. Acredita-se que, mudanças sazonais ou alterações nos locais das colmeias podem contribuir para a alteração na variabilidade fúngica (CALLEGARI et al., 2021, HALL et al., 2021, LUDVIGSEN et al., 2021) e as flores também podem ser fontes de fitopatógenos, que podem ser dispersados pelas abelhas (GRAYSTOCK et al., 2020). Os fungos *Fusarium* e *Alternaria*, encontrados nesse trabalho, são conhecidos patógenos de plantas (DING et al., 2024).

Nesse trabalho, *Aspergillus* foi o gênero mais frequentemente isolado entre as abelhas, além de *Penicillium*. Nos estudos de Ferraz et al. (2008) e Lima et al. (2012), os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* apresentaram alta ocorrência. Além de representar uma das ameaças mais relevantes de origem fúngica à saúde humana e animal, o gênero *Aspergillus* inclui patógenos oportunistas que podem infectar abelhas em todos os estágios de desenvolvimento. No entanto, se não forem patogênicos, esses componentes da microbiota da colmeia podem ser benéficos para as abelhas (BECCHIMANZI e NICOLETTI, 2022). A predominância do gênero *Aspergillus* em abelhas pode ser explicada pelo fato de ser um fungo que apresenta potencial em competir com outros fungos (BHANDARI et al., 2020). Essas espécies podem aumentar a resistência das abelhas à substâncias xenobióticas por meio da desintoxicação e estabilizar o pólen e o pão de abelha (mistura de pólen e nectar ou mel) produzindo vitaminas e minerais (KIELISZEK et al., 2018). Espécies de *Aspergillus*, como a encontrada nesse trabalho, *A. ochraceus*, são produtores de ocratoxina A (OTA), designada como uma micotoxina e é regulamentada mundialmente devido aos seus efeitos nocivos em humanos e animais. No entanto, a história evolutiva e o significado ecológico da OTA em fungos ainda são pouco compreendidos (CHEN et al., 2025). Segundo relatado por Niu et al. (2011) extratos de própolis, uma mistura complexa de substâncias químicas derivadas de plantas, inclui muitos flavonoides e outros compostos fenólicos, que atenuam a toxicidade das aflatoxinas produzidas por *Aspergillus*. Cepas

toxigênicas ou não toxigênicas de *Aspergillus* podem coexistir em um equilíbrio homeostático que pode ser alterado vários fatores externos, levando a uma mudança mutualística/antagônica nas relações entre *Aspergillus* e abelhas (BECCHIMANZI e NICOLETTI, 2022).

Aspergillus spp. são onipresentes em habitats terrestres devido à sua capacidade de se dispersar globalmente com correntes de ar e de crescer em diversos substratos. Esses fungos são comumente isolados do solo, principalmente de serrapilheira. De fato, muitas espécies de *Aspergillus* podem crescer abundantemente como saprófitas em vegetação em decomposição e são adaptadas para a degradação de polímeros vegetais complexos (BENNETT, 2010). Assim, a associação de várias espécies de *Aspergillus* com abelhas e produtos apícolas, particularmente com pólen, é bastante conhecida. A introdução natural de fungos no ambiente das abelhas provavelmente ocorre no período entre a coleta do pólen da planta, a formação do pólen da abelha e a secagem e armazenamento do pólen nos ninhos (BARBOSA et al., 2018). Segundo Becchimanzi e Nicoletti (2022), com base em dados disponíveis na literatura e no GenBank, até o momento pelo menos 30 espécies diferentes de *Aspergillus* foram isoladas de abelhas, pertencendo principalmente às seções *Flavi*, *Fumigati* e *Nigri*.

Souza e colaboradores (2018) verificaram a ocorrência de fungos filamentosos na superfície corporal de abelhas sem ferrão, em colmeias artificiais da região metropolitana de Manaus, de dois meliponários. Todas as abelhas triadas apresentaram a ocorrência de fungos em sua superfície corporal, onde os gêneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Acremonium* e *Cladosporium*. Uma característica importante das espécies de *Penicillium* é a produção de uma gama diversificada bioativos, como a micotoxina citrinina (NIELSEN et al., 2017, BARBOSA et al., 2018). A combinação de extrólitos detectados pode potencialmente desempenhar um papel na interação entre diferentes organismos (FRISVAD, 2008). A presença dessas micotoxinas é indesejada e pode afetar negativamente a qualidade do pólen de abelha para consumo humano, mas a função dos extrólitos depende de sua interação ecológica. Os insetos são bem adaptados para se alimentar de plantas que contêm um amplo espectro de compostos químicos (DOWD, 1992).

De fato, os fungos desempenham um papel importante em muitos ecossistemas; no entanto, apenas um número limitado de estudos abordou, até o momento, a associação entre abelhas sem ferrão no Brasil e fungos filamentosos (BARBOSA et al., 2018) e os resultados apresentados nesse trabalho podem contribuir com esses estudos.

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Os fungos isolados neste trabalho preliminar envolvendo apenas três espécies de abelhas sem ferrão pertencem a diferentes gêneros, com potencial diversificado para aplicações biotecnológicas. Deste modo, podemos inferir que as abelhas sem ferrão representam uma fonte extremamente importante e pouco onerosa para a prospecção de fungos filamentosos diversos com potencial biotecnológico. Uma vantagem do isolamento a partir de colmeias de meliponíneos está relacionada com a adaptação dos isolados fúngicos ao microclima local, o que pode significar em bons desempenhos biotecnológicos. Também possibilita a compreensão de possíveis fitopatógenos, patógenos, ou aqueles que podem influenciar na defesa imunológica das abelhas e na qualidade do mel.

O escopo do presente estudo não permite determinações conclusivas quanto à associação entre as três espécies de abelhas sem ferrão estudadas com a comunidade fúngica identificada. Investigações adicionais abrangendo um espectro ambiental mais amplo e estudos longitudinais são necessárias para melhor compreender as potenciais flutuações na abundância da comunidade fúngica atribuídas a fatores ambientais.

Adicionalmente, um trabalho que pretendemos desenvolver futuramente está relacionado com a prospecção de leveduras, que são importantes para a colmeia e também potencial fonte de produtos e aplicações biotecnológicas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, F. D. S. **Aspectos da ecologia química de *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.), *Epicoccum nigrum* e *Tetragonisca angustula***. 2012. 255 p. Tese doutorado - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ESTUDOS DE ABELHAS – ABELHAS. **Fichas catalográficas das espécies relevantes para a meliponicultura**. 2021. Acesso em 29/06/2025, disponível em: < <https://abelha.org.br/abelha-icmbio-fichas-catalograficas-das-especies-relevantes-para-a-meliponicultura/> >

BALLIVIÁN, J. M. P. P. et al. **Abelhas Nativas Sem Ferrão**. São Leopoldo-RS: Editora

BARBOSA, R. N.; BEZERRA, J. D. P.; SOUZA-MOTTA, C. M.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A.; OLIVEIRA, N. T. et al. **New *Penicillium* and *Talaromyces* species from honey, pollen and nests of stingless bees**. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 111, p. 1883-1912, 2018.

BARTH, O. M.; DUTRA, V. M. L.; JUSTO, R. L. **Pollen analysis of some samples of propolis from southern Brazil**. *Ciência Rural*, v. 29, n. 4, p. 663-667, 1999.

BECCHIMANZI, A.; NICOLETTI, R. ***Aspergillus*-bees: A dynamic symbiotic association**. *Frontiers in Microbiology*, 2022.

BENNETT, J. W. **An overview of the genus *Aspergillus***, in ***Aspergillus: Molecular Biology and Genomics***. eds. M. Machida and K. Gomi (Wymondham: Caister Academic Press), 1–17, 2010.

BHANDARI, K. B., LONGING, S. D., WEST, C. P. **Bees occurring in corn production fields treated with atoxigenic *Aspergillus flavus* (Texas, USA)**. *Agronomy*, v.10, n. 4, 2020.

BLOCHTEN, B. et al. **Manual de boas práticas para a criação e manejo racional de abelhas sem ferrão no RS: Guaraipo-*Melipona bicolor schenki*, Manduri-*Melipona marginata obscurior*, Tubuna-*Scaptotrigona bipunctata***. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2008.

CALLEGARI, M.; CROTTI, E.; FUSI, M. et al. **Compartmentalization of bacterial and fungal microbiomes in the gut of adult honeybees**. *npj Biofilms and Microbiomes*, v. 7, n. 42, 2021.

CARVALHO, A.T.; ZANELLA, F. C. V. **Espécies de abelhas sem ferrão criadas no estado do Rio Grande do Norte**. In: IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; KOEDAM, D.; HRNCIR, M. A abelha jandaíra no passado, no presente e no futuro, Mossoró, EdUFERSA, 2017. pp.41-72

CASTILLO, D. C.; SINPOO, C, PHOKASEM P.; YONGSAWAS, R.; SANSUPA, C.; ATTASOPA, K.; SUWANNARACH, N.; INWONGWAN, S.; NOIRUNGSEE, N.; DISAYATHANOOOWAT, T. **Distinct fungal microbiomes of two Thai commercial stingless bee species, *Lepidotrigona terminata* and *Tetragonula pagdeni* suggest a possible niche separation in a shared habitat**. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 14, 2024.

CAUICH, O. et al. **Polination of habanero pepper (*Capsicum chinese*) and production in enclosures using the stingless bee *Nannotrigona perilampoides***. *Journal of Apicultural Research*. v. 45, n. 3, p. 125-130, 2006.

CHEN, L.; YAN, Z.; YANG, B.; TAI, B.; LI, W.; LI, E.; WANG, G.; XING, F. **Differential retention and loss of a mycotoxin in fungal evolution**. *Toxins*, v. 17, n. 311, 2025.

Consema – **Conselho Estadual do Meio Ambiente; SDE – Secretaria de Estado do Desenvolvimento Econômico Sustentável**. Resolução Consema n.º 002, de 6 de dezembro de 2011. Lista oficial de espécies da fauna ameaçadas de extinção no estado de Santa Catarina. Diário Oficial do Estado de Santa Catarina n.º 19.237, de 20 dez. 2011. p. 2-8.

CRUZ, L. C. H. **Micologia veterinária**. Itaguaí, Imprensa Universitária UFRRJ, 1985, p. 201.

CRUZ-LANDIM, C. **Bacteria present in the intestinal tract of *Melipona quadrifasciata anthioides* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. *Journal of Hymenoptera Research*. v. 5, p. 264-272. 1996.

DE PAULA, G. T.; MENEZES, C.; PUPO, M. T.; ROSA, C. A. **Stingless bees and microbial interactions**. *Current Opinion in Insect Science*, v. 44, p. 41-47, 2021.

DING, D.; SHAO, Y.; ZHAO, J.; LIN, J.; ZHANG, X.; WANG, X.; XU, X.; XU, C. **Identification and pathogenicity of *Alternaria* and *Fusarium* species associated with bagged apple black spot disease in Shaanxi, China**. *Frontiers in Microbiology*, 2024.

DOWD, P. F. **Insect interactions with mycotoxin-producing fungi and their hosts**. In: Bhatnagar D, Lillehoj EB, Arora DK, editors. *Handbook of Applied Mycology*. New York: Marcel Dekker, pp. 137-155, 1992.

ELTZ, T.; BRUHL, C. A.; GORKE, C. **Collection of mold (*Rhizopus* sp.) spores in lieu of pollen by the stingless bee *Trigona collina***. *Insects Sociaux*. v. 49, n. 1, p. 28-30, 2002.

EVANGELISTA, Rodrigues, A.; DANTAS, H. K. DE M.; FERRAZ, M. A. 2004. **Diagnóstico da arquitetura do ninho de *Melipona scutellaris* L.** *Mensagem Doce*, 1 (78): 24-28.

FABICHAK, I. **Abelhas indígenas sem ferrão Jataí**. Nobel, São Paulo, 1989.

FERRAZ, R. E.; LIMA, P. M.; PEREIRA, C. C. O.; FREITAS, N. D.; FEIJÓ, F. M. C. **Microbiota Fúngica de *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae)**. *Neotropical Entomology*, v. 37, n. 3, p. 345-346, 2008.

FRISVAD, J. C. **Fungi in cold ecosystems**. In: Margesin R, Schinner F, Marx JC, Gerday C, editors. *Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2008.

GEUSTER, C. ***Melipona mondury* (bugia) em Santa Catarina. Características e manejo**. *Mensagem Doce*. 2019; 150. Disponível em: <http://apacame.org.br/site/revista/mensagem-doce-n-150-marco-de-2019/que-abelha-e-esta-2/>.

GILLIAM, M. **Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees**. *FEMS Microbiology Letter*. v. 155, n. 1, p. 1-10. 1997.

GRAYSTOCK, P.; NG, W. H.; PARKS, K. et al. **Dominant bee species and floral abundance drive parasite temporal dynamics in plant-pollinator communities**. *Nature Ecology & Evolution*, v. p. 1358-1367, 2020.

GRIMALDI, D.; ENGEL, M.S. **Evolution of the insects**. Cambridge University Press, 2005.

GRÜTER, C.; KÄRCHER, M. H.; RATNIEKS, F. L. W. **The natural history of nest defence in a stingless bee, *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae), with two distinct types of entrance guards.** Neotropical Entomology, v. 40, p. 55-61, 2011.

HALL, M. A.; BRETTELL, L. E.; LIU, H. et al. **Temporal changes in the microbiome of stingless bee foragers following colony relocation.** FEMS Microbiology Ecology, v. 97, n. 1, 2021.

HEATHER, M.; RIOS, D.; WALKER-SPERLING, V. et al. **Characterization of the active microbiotas associated with honey bees reveals healthier and broader communities when colonies are genetically diverse.** PlosOne. v.7. 2012.

KERR, W.E. et al. **Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. Parcerias estratégicas,** n. 12, 2001.

KIELISZEK, M.; PIWOWAREK, K.; KOT, A. M.; CHLEBOWSKA-ŚMIGIEL, A.; WOLSKA, I. **Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review.** Trends in Food Science & Technology, v. 71, p. 170–180, 2018.

LIBERIO, S. A. et al. **Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith.** BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 11, n. 1, p. 108, 2011.

LIMA, C. B. S.; RIBEIROM, F.; GAVA, C. A. **Identificação de fungos encontrados em colônias de manduri (*Melipona asilvai*) em Petrolina-PE.** Semana Entomológica da Bahia (SINSECTA), Cruz das Almas-BA, v. 1, p. 240, 2012.

LIU, H.; HALL, M. A.; BRETTELL, L. E.; WANG, J.; HALCROFT, M.; NACKO, S.; et al. **Microbial diversity in stingless bee gut is linked to host wing size and influenced by the environment.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 198, 2023.

LOPES M, FERREIRA J.B., SANTOS G. **Abelhas sem ferrão: a biodiversidade invisível.** Agriculturas, v. 2, 2005.

LUDVIGSE, J.; ANDERSEN, Å.; HJELJORD, L. et al. **The honeybee gut mycobiota cluster by season versus the microbiota which cluster by gut segment.** Journal of Veterinary Science, v. 8, p. 1–8, 2021.

MACHADO, A.P.S.; TEIXEIRA-NETO, M.L.; MONTEIRO, F.C.; SOBREIRA, R.S.; CÂMARA, J.A.S.; FOGAÇA, F.H.S.; PEREIRA, F.M. **Diagnóstico socioeconômico-cultural e ambiental dos municípios do Projeto Boa Esperança.** Teresina, PI: Embrapa Meio-Norte, 2010. (Embrapa Meio-Norte. Documentos 202).

MATTILA, H. R.; RIOS, D.; WALKER-SPERLING, V. E.; ROESELERS, G.; NEWTON, I. L. G. **Characterization of the active microbiotas associated with honey bees reveals healthier and broader communities when colonies are genetically diverse.** Journal PLOS ONE, v. 7, 2012.

MELO, G. A. R. **Notas sobre meliponíneos neotropicais (Hymenoptera, Apoidea) com a descrição de três novas espécies (Hymenoptera, Apidae).** In: Melo, G. A. R. & I. Alves-dos-Santos. Apoidea neotropical: homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure. Criciúma: Editora Unesc; 2003. p. 85-92.

MICHENER, C.D. **The bees of the world.** John Hopkins University Press, Baltimore, p. 913, 2000.n. 41, p. 193-212, 2001.

MIRHENDI, H.; MAKIMURA, K.; KHORAMIZADEH, M.; YAMAGUCHI, H. **A One-Enzyme PCR-RFLP Assay for Identification of Six Medically Important Candida Species**. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi, [S.L.], v. 47, n. 3, p. 225-229, 2006.

MOUGA, D. M. D. S. **Abelhas de Santa Catarina: histórico das coletas e lista das espécies**. Revista Univille. 2009; 14(2): 75-112.

NIU, G.; JOHNSON, M. R.; BERENBAUM, M. R. **Toxicity of mycotoxins to honeybees and its amelioration by propolis**. Apidologie, v. 42, p. 79–87, 2011.

NIELSEN, K. F.; MÅNSSON, M.; RANK, C. **Dereplication of microbial natural products by LC-DAD-TOFMS**. Journal of Natural Products, v. 74, p. 2338-2348, 2011.

NOGUEIRA, R.H. **As abelhas na manutenção da biodiversidade e agregação de rendas**. Congresso brasileiro de apicultura, Salvador-BA. p. 101, 1998.

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

NUNES-SILVA, P., HRNCIR, M., DA SILVA, C.I. et al. **Stingless bees, *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in greenhouses**. Apidologie, 44, 537–54, 2013.

OLIVEIRA, Favízia. RICHES, Bárbara. SILVA, Jacson. Et al. **Guia ilustrado das abelhas “Sem-Ferrão” das reservas Amanã e Mamirauá, Brasil (Hymenoptera: Apidae, Meliponini)**. Tefé: IDSM, 2013.

OLLERTON, J; WINFREE, R.; TARRANT, S. **How Many Flowering Plants are Pollinated by Animals?** Oikos, v. 120, n. 3, p. 321-326, 2011.

PANTOJA, M. C. **Diversidade de fungos na superfície do corpo de abelhas sem ferrão em meliponicultor de Manaus e Iranduba/AM**. FAPEAN, Universidade Federal do Amazonas, 2014.

PEDRO, S.R.M. **The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae)**. Sociobiology internacional journal on social insects, 2014.

RAMOS, J.S.; CARVALHO, N.C. **Estudo morfológico e biológico das fases de desenvolvimento de *Apis mellifera***. Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal, n. 10, p. 1-21, 2007.

RUTKOWSKI, D.; LITSEY, E.; MAALOUF, I. et al. **Bee-associated fungi mediate effects of fungicides on bumble bees**. Ecological Entomology, v. 47, p. 411-422, 2022.

SANTOS, J. **Fungos isolados de colmeias de melipona scutellaris e avaliação da capacidade de produção de lipases**. Tese de mestrado, UFPE, 2019.,

SILVA, M. S. et al. **Microorganisms in Honey**. In: TOLEDO, V. A. A. Honey Analysis. Sociobiology, v. 61, p. 348-354, 2014.

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. L. **Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica**. Natureza online, v.10, p. 146-152, 2012.

SILVEIRA F.A et al. **Abelhas brasileiras: Sistemática e identificação**. Belo Horizonte:IDM, 2002.

SOUZA, D. C.; BAZLEN, K. **Análises preliminares de características físico-químicos de méis de Tiúba (*Melipona compressipes*)**. Anais do XII Congresso Brasileiro de Apicultura, Salvador, Brasil, p.267-268, 1998.

SOUZA, J. R. S.; SARQUIS, M. I. M.; PANTOJA, M. C.; NETO, P. Q. C. et al. **Occurrence of filamentous fungi associated with stingless bees *Melipona* in**

meliponaries at the metropolitan region of Manaus, Amazonas. Revista da Biologia, v. 18, n. 1, p.1-5, 2018.

STUART, R.M.; LAMAS, C.; PIMENTEL, I.C. **Trigona sp. Como visitante floral e vetor de esporos fúngicos para goiabeira (*Psidium guajava* L. - *Myrtaceae*).** Estudos de Biologia, Ambiente e Diversidade, v. 26 n. 55, 2004.

STUCHI, A. L.; TAKASUSUKI, M. C. TOLEDO, V. **Análise da genética de populações em abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula* Latreille) por meio de isoenzimas.** Magistra, Cruz das Almas-BA, v. 20, n. 1, p. 68-77, 2008.

THAMM, M.; REIß, F.; SOHL, L.; GABEL, M.; NOLL, M.; SCHEINER, R. **Solitary bees host more bacteria and fungi on their cuticle than social bees.** Microorganisms, v.11, n. 11, 2023.

VIANA, J. L., H. DE A. C. SOUSA, R. M. DE O. ALVES, D. G. PEREIRA, J. C. SILVA JR., J. F. DA PAIXÃO & A.M. WALDSCHMIDT. **Bionomics of *Melipona mondury* Smith 1863 (Hymenoptera: Apidae, Meliponini) in relation to its nesting behavior.** Biota Neotropica, v. 15, n. 3, p. 1-7, 2015.

WIELEWSKI, P. **Identidade Taxonômica, notas Bionômicas e sobre o Comportamento Higiênico de *Scaptotrigona bipunctata* (Lepeletier, 1836), (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** 2018. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2018.

WITOLD, Z. **As estruturas territoriais dos insetos.** Ciências. Estudos Avançados, v. 15, n. 41, 2001.

WITTER, S. et al. **As abelhas e a agricultura.** Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 11, 2014.

ZMITROWICZ, W. **As estruturas territoriais dos insetos.** Estudos Avançados, v. 15, n. 41, p. 193-212, 2001.