



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE FORMAÇÃO DE PROFESSORES
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

GILDOBERG NUNES DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO MEL E GEOPRÓPOLIS DA
ABELHA *Melipona subnitida ducke* À BACTERIAS *Escherichia coli*,
Staphylococcus aureus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* e
*Enterococcus faecalis***

CAJAZEIRAS-PB

2018

GILDOBERG NUNES DA SILVA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO MEL E GEOPRÓPOLIS DA ABELHA
Melipona subnitida Ducke À BACTERIAS *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,
Pseudomonas aeruginosa, *Proteus mirabilis* e *Enterococcus faecalis*

Trabalho de conclusão de curso referente à **Disciplina TCC** do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas Centro de Formação de Professores da UFCG como requisito comprobatório Obrigatório de todas as atividades desenvolvidas durante a disciplina.

Orientador

PROF. DR. JOSÉ CEZARIO DE ALMEIDA

Cajazeiras – Paraíba

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação - (CIP)

Josivan Coêlho dos Santos Vasconcelos - Bibliotecário CRB/15-764

Cajazeiras - Paraíba

S586a Silva, Gildoberg Nunes da.

Atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis da abelha *Melipona subnitida* Ducke à bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* e *Enterococcus faecalis* / Gildoberg Nunes da Silva. - Cajazeiras, 2018.

32f.: il.

Bibliografia.

Orientador: Prof. Dr. José Cezário de Almeida.

Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) UFCG/CFP, 2018.

GILDOBERG NUNES DA SILVA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO MEL E GEOPRÓPOLIS DA ABELHA
Melipona subnitida Ducke À BACTERIAS Escherichia coli, Staphylococcus aureus,
Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis e Enterococcus faecalis

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado à Coordenação do
Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Centro de Formação
de Professores da Universidade Federal Campina Grande, como
requisito para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Apresentado e Aprovado em _____ / _____ / _____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr José Cezario de Almeida
Orientador
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

Marília Andreza da Silva Ferreira
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

M. Sc Thalita Sevia Soares Almeida
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

M. Sc Flavio Lourenço de Oliveira
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

RESUMO

Os produtos apícolas revelam-se como alternativas aos moradores de áreas do Brasil que possuem precários sistemas de assistência médica disponíveis, o que motiva ainda seu aproveitamento cultural como fonte de renda; existem diversas

espécies de abelhas, entre elas as sociais nativas ou meliponíneos, as mesmas habitam o planeta desde o período Cretáceo e sua criação racional que vem a ser, a meliponicultura, desenvolve-se principalmente no norte e nordeste brasileiro. A abelha jandaíra é um meliponíneo típico do sertão, sua criação por é de fácil manejo, que produz geoprópolis e mel sendo de ótima qualidade com coloração que depende de florada, estocagem e fatores climáticos. Este trabalho visa realizar uma verificação da atividade antimicrobiana in vitro do mel e geoprópolis de jandaíra *Melípona Subnitida* Duke bactérias: Gram positivas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; Gram negativas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Proteus mirabilis* ATCC 25922. Foram realizados testes de difusão em disco e microdiluição com diferentes concentrações de mel e de Geopropolis de Jandaira, A leitura dos resultados foi realizada medindo-se o diâmetro dos halos, em mm, formados ao redor dos discos contendo os reagentes que quando maior que 6 mm torna-se visível e indica suscetibilidade do micro-organismo à substância testada, observamos que a geoprópolis foi capaz de inibir crescimento de todas as cepas exceto E. coli e o mel não apresentou nenhuma atividade antibacteriana.

Palavras-chave: Semi-árido. Jandaíra. Bioprospecção.

ABSTRACT

Apiculture products are alternatives to the inhabitants of areas of Brazil that have precarious health care systems available, which also motivates their cultural use as a source of income; there are several species of bees, among them the native or meliponíneos social, they have inhabited the planet since the Cretaceous period and its rational creation that comes to be, meliponicultura, is developed mainly in the north and northeastern Brazil. The jandaíra bee is a meliponíneo typical of the sertão, its creation by is of easy handling, that produces geoprópolis and honey being of excellent quality with coloration that depends on flowering, storage and climatic factors. This work aims to perform a check of the in vitro antimicrobial activity of the honey and geoprópolis of Melanda Sherpa Subnitida Duke bacteria: Gram positive *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; Gram negative strains *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Proteus mirabilis* ATCC 25922. Disk diffusion and microdilution tests with different concentrations of honey and Geopropolis de Jandaira were performed. The results were measured by measuring the diameter of the halos , in mm, formed around the disks containing the reagents that when greater than 6 mm becomes visible and indicates susceptibility of the microorganism to the substance tested, we observed that the geopropolis was capped to inhibit growth of all strains except *E. coli* and honey showed no antibacterial activity.

Key words: Semi-arid. Jandaíra. Bioprospecting.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Placas com os micro-organismos incubadas em AMH apresentando halos de inibição(2018).-----11

Figura 2- Valores da CIM dos micro-organismos em teste de disco de difusão frente os reagentes testados(2018).-----14

Figura 3-Microplacas de 96 poços no teste de microdiluição para leitura após a encubação(2018).-----15

LISTA DE TABELAS

Tabela1: Verificação da atividade antimicrobiana frente às cepas no método de disco de difusão (2018).-----13

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC - American Type Culture Collection

BHI - Brain Heart Infusion

CIM - Concentração Inibitória Mínima

UFC - Unidade Formadora de Colônia.

AMH – Ágar Mueller-Hinton

FDA - Food and Drug Administration

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

CBM – Concentração Bactericida Mínima

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO..... | 11 |
| METODOLOGIA..... | 14 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| CONCLUSÕES | 20 |
| REFERÊNCIAS | 21 |
| ANEXOS | 26 |

INTRODUÇÃO

Desde os tempos remotos as plantas medicinais e seus constituintes derivados respondem pela maioria dos ingredientes descritos no receituário praticado na cultura das medicinas tradicionais, atraindo, portanto, o foco dos interesses científicos monitorados pelas indústrias farmacêuticas, os produtos apícolas revelam-se um componente integral dos costumes da região Nordeste brasileira, em especial no semi-árido, onde, em conjunto, propiciam alternativas aos precários sistemas de assistência médica disponíveis nessas áreas, o que motiva ainda seu aproveitamento cultural como fonte de renda (ALVES et al., 2008, FERREIRA et al., 2009).

Desde o período cretáceo existem diversas espécies de abelhas, entre elas as nativas do Brasil que não possuem ferrão e são conhecidas como abelhas indígenas, ou meliponíneas. (CARTAXO, 2012). Cerca de aproximadamente 20.000 espécies de abelhas são conhecidas no mundo, sendo que no Brasil estima-se que existam mais de 200 espécies nativas e muitas outras ainda não descritas, entre as quais se destacam as abelhas sociais (SILVA, 2016).

As abelhas pertencem à família *Apidae* e subfamília *Apinae*, havendo separação das diferentes abelhas a partir da distribuição em tribos. Podendo ser classificada em uma das 20 tribos existentes. As abelhas sem ferrão ou meliponíneas, estão inseridas na tribo *Meliponini*, a qual apresenta mais de 30 gêneros de abelhas (CAMARGO; PEDRO, 2013).

A criação de abelhas indígenas é chamada de meliponicultura e desenvolve-se principalmente no Norte e Nordeste brasileiro, onde o manejo das mesmas ocorre há bastante tempo com técnicas de manejo hereditárias e consagradas. (QUEIROZ, et al., 2004). Atualmente, a meliponicultura é uma prática que alcança maior destaque nas regiões Norte e Nordeste, sendo em algumas ocasiões atividade econômica complementar bem estabelecida, pois seus produtos (mel, pólen, própolis e geoprópolis) bastante apreciados pela população local devido seus valores nutricionais e terapêuticos, portanto, valorizados economicamente é uma atividade importante não só pelo papel social e econômico que representa, mas também pelo papel ecológico na manutenção de plantas nativas (SILVA, 2016).

Segundo NOGUEIRA-NETO (1970) a verdadeira jandaira vive no Nordeste e em outras regiões como a Amazônia há diversas outras abelhas denominadas jandaíra, provavelmente essa designação é devida à influência dos emigrantes nordestinos, no interior de Alagoas, é chamada de urucu, os povos pré-colombianos já conheciam as abelhas sem ferrão e as domesticaram, dando-lhes os nomes que ainda hoje perduram na cultura popular brasileira, sendo alguns deles: *jataí*, *uruçu*, *tiúba*, *mombuca*, *irapuá*, *tataíra*, *jandaíra*, *guarupu*, *manduri* e tantas outras. A utilização de nomes vulgares varia de região para região, dificultando a identificação das espécies e sua classificação científica. A abelha jandaíra é um meliponíneo típico do sertão, sua criação é de fácil manejo o que lhe confere cultivo seguro nas proximidades de residências, essa atividade contribui para a conservação dos meliponíneos e de seus habitat naturais que são em sua maioria troncos ocos; por este motivo é considerada sustentável, pois inclui a restauração ambiental através da preservação e plantio de árvores que servem de locais

de nidificação, além da atuação das abelhas na polinização da flora nativa. Tendo como principais produtos de interesse comercial: o mel que é apreciado pelas populações nativas, por seu alto valor comercial e possuir bom sabor, cheiro e cor lhe conferindo ótima qualidade nutricional, terapêutica, etc. (QUEIROZ. et al., 2004).

O mel é produzido a partir do néctar das flores, e durante a sua coleta as abelhas forrageiras ficam com grãos de pólen aderidos ao corpo, ocasionando o seu aparecimento nas amostras de mel; Para verificar a origem botânica, ou seja, identificar o pólen coletado pelas abelhas e a partir daí determinar as plantas utilizadas para produzir o mel, existe a linha de pesquisa chamada melissopalínologia. As análises das amostras de mel podem ser realizadas de duas maneiras: qualitativa e quantitativa. A avaliação qualitativa pode fornecer informações sobre a caracterização do mel, como: origem botânica e regional. A análise quantitativa acrescenta a participação de cada planta na formação do mel. A qualidade final do mel também será influenciada pela características do néctar e o tempo de maturação do mel (PINHEIRO, 2016).

De acordo com Bijlsma et al., (2006), a umidade do mel das abelhas sem ferrão é mais alta que a do mel da abelha *Apis mellifera*; outros fatores, além da espécie de abelha podem causar variação na composição do mel, sendo os ambientais como solo, clima e tipo de florada e os de produção como tempo de maturação, processamento e período de armazenamento podem afetar as características do mel, principalmente quando associado com oscilações de temperatura sendo a cor a mais comumente alteradas (PINHEIRO et al., 2016).

Além de produzir mel a abelha jandaíra realiza a polinização de plantas, garantindo assim um equilíbrio no ambiente e produz outros compostos para atuarem como defesas como a própolis que é utilizada nas construções, ocorre uma mistura, em proporções variáveis, com outros componentes como cera, fibras e resinas vegetais, sementes e barro (CRUZ et al., 2004, OLIVEIRA et al., 2012; ARAÚJO, 2013).

A própolis é elaborada pelas abelhas, que utilizam como matéria prima uma ampla gama de substâncias coletadas de diferentes partes das plantas na flora regional, agregando secreções salivares, cera e pólen para produzir um material de natureza resinosa e com variada coloração, textura e consistência; é utilizada na construção e vedação da colmeia, como também para embalsamar insetos intrusos daninhos, prevenindo a decomposição e a proliferação de microrganismos que possam infectar a colônia(SILVA, 2016). A geoprópolis é produzida pelas abelhas nativas pertencentes à tribo Meliponini, no qual é utiliza na construção da entrada e das divisórias no local de nidificação da espécie, diferindo da própolis por ser produzida pelas abelhas sociais sem ferrão. A elaboração da geoprópolis é possível a partir da utilização de terra e/ou barro, além de resinas de plantas e cera (SAWAYA et al., 2011; CUNHA et al., 2013).

A arquitetura da colônia reside primariamente em combinações de cera-resina denominadas cerume, moldadas para a formação dos notáveis arranjos de tubos de entrada, além dos favos de cria e potes de mel e pólen, que estabelecem a configuração básica para o suprimento das necessidades reprodutivas, alimentares e de defesa. Mais do que um mero material para a construção dos ninhos, as resinas constituem verdadeiras barreiras químicas ao ataque de organismos invasores sendo elas induzidas pelo seu comportamento instintivo, abelhas operárias adultas de todo tipo coletam resinas de ápices vegetativos, como brotos de árvores e arbustos e nós de folhas, inflorescências, exudatos de ferimentos em caules lenhosos retirando porções com suas mandíbulas e transferindo, assim como o faz com o pólen, (CARTAXO, 2012). As propriedades dissuasivas das resinas vegetais, secretadas por inúmeras

espécies arbóreas, naturalmente em estruturas jovens da planta ou em resposta a injúrias e infecções (LEONHARDT; BLÜTHGEN, 2009), são devidas a sua composição em terpenos, especialmente, mono-, sesqui- e triterpenos, alguns dos quais constituem mecanismos de defesa contra herbívoros, parasitas ou microorganismos, assim como insetos fitófagos, que são afastados em razão das características adesivas e viscosas encontradas nesses exudatos (DUANGPHAKDEE et al, 2009).

Depósitos de resina fresca revestindo o orifício do tubo de entrada do ninho são dispostas como armadilhas para aprisionar e deter podendo até serem combinados com uma estreita passagem construída para se ajustar ao tamanho das operárias, a invasão de formigas e cupins (ROUBIK, 2006). As atividades biológicas se estendem também para uma segunda linha de defesa, ligada à manutenção de um ambiente interno asséptico, prevenindo o desenvolvimento e a disseminação de infecções bacterianas e fúngicas (STEARMAN et al, 2008, CARTAXO, 2012).

O interesse na pesquisa pelas inúmeras propriedades terapêuticas da própolis e geoprópolis é crescente. Sendo utilizados extratos etanólicos, hidroalcoólicos e aquosos em estudos frente a sua avaliação farmacognóstica, atividade antiviral, antibacteriana, antifúngica e antiparasitária (DUTRA et al., 2008; SOUZA et al., 2013).

A Geopropolis é uma mistura de resina, cera e solo, e é um tipo pouco comum de própolis produzidos por abelhas indígenas nativas da tribo Meliponini, que são amplamente distribuídas em áreas tropicais e subtropicais em todo o mundo (SFORCIN e BANKOVA 2011, SOUZA, et. al, 2014).

Nesta perspectiva este trabalho visa avaliar a atividade antimicrobiana in vitro do mel e geoprópolis de jandaíra (*Melipona subnitida duke*), através do teste de difusão em disco e teste de microdiluição frente à cinco cepas de bactérias, sendo as mesmas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Proteus mirabilis* ATCC 25922.

METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia, Parasitologia e Patologia do Centro de Formação de Professores da Universidade Federal de Campina Grande campus de Cajazeiras, sob orientação do professor Doutor José Cesário de Almeida.

Foram realizados testes em disco de difusão com diferentes concentrações de mel puro, sem aditivos químicos e Geoprópolis apenas diluída em twen 80, ambos de Jandaíra, que foram doados por um meliponicultor do município de São João do Rio do Peixe, PB, onde ocorreu a coleta.

O teste de difusão em disco é aceito pelo FDA (Food and Drug Administration) e estabelecido como padrão pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Este método foi idealizado por Bauer et al. em 1966, e desde então é um dos métodos mais utilizados nos laboratórios de microbiologia clínica no Brasil para testar a suscetibilidade aos antimicrobianos. Esse método é qualitativo, ou seja, permite classificar a amostra bacteriana em suscetível, intermediária ou resistente ao antimicrobiano (SANTOS et al 2010; SEJAS et al., 2003).

Os micro-organismos utilizados para os testes foram as cepas bacterianas: Gram positivas *S. aureus* e *E. faecalis*; Gram negativas *E. coli*, *P. aeruginosa* e *P. mirabilis*, respectivamente.

Na execução dos testes com o material, os meios de cultura utilizados foram: O AMH e Caldo BHI. Antes de utilizá-los, os meios foram solubilizados em água destilada e esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos.

Em seguida, foi realizada uma suspensão dos cinco micro-organismos, cujo grau de turvação obedeceu a escala 0,5 de McFarland, que corresponde a 1×10^8 UFC/mL. Que foi espalhado com um swab de algodão estéril foi mergulhado na suspensão ajustada, girado várias vezes e apertado firmemente contra a parede interna do tubo, acima do nível do líquido, com o intuito de retirar qualquer excesso de inóculo no swab. A superfície seca da placa de AMH foi inoculada esfregando o swab em toda a superfície estéril do meio. Repetiu-se o procedimento três vezes, girando a placa aproximadamente 60° cada vez, a fim de assegurar a distribuição uniforme do inóculo. Ao final, passou-se o swab na margem da placa de ágar, de forma circular por duas vezes, fechando o inóculo. Após o semeio cada disco foi impregnado com os reagentes e pressionado de encontro à placa, de maneira a assegurar contato completo com a superfície de ágar, sendo aplicados individualmente e distribuídos por igual, de forma que a distância do centro do disco para borda da placa não excedesse 24 mm. As placas contendo AMH foram invertidas e colocadas numa estufa, a 35° C, por 24 hora após a aplicação dos discos nas mesmas que foram assepticamente fechadas e incubadas a 35°C por 24 horas, para realização da leitura. Após o tempo de incubação, realizou-se a leitura. Os testes de difusão em disco foram realizados e os resultados expressos em mm pela média aritmética do diâmetro dos halos de inibição formados ao redor dos discos

A determinação da CIM, também foi testada através da técnica de microdiluição em caldo utilizando placas de 96 poços estéril com tampa. Nos poços das linhas A, à H, que são numerados de 1 a 12, foram adicionados 100 µL de Caldo BHI concentrado. Em seguida, realizou-se uma diluição seriada em razão de dois, obteve-se as

concentrações de: 100, 50, 25, 12,5, 6,025 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de mel puro e geoprópolis pura dissolvida em Polissorbato 80 (tween 80) com Fórmula Molecular: $\text{C}_{64}\text{H}_{124}\text{O}_{26}$, e Peso Molecular: 1309,7, adquiridos através de doação; de modo que no primeiro poço da linha A encontrou-se a maior concentração e, no quinto (F), a menor concentração, contendo também 10 μL do inóculo bacteriano, cujas alíquotas foram retiradas da suspensão dos micro-organismos.

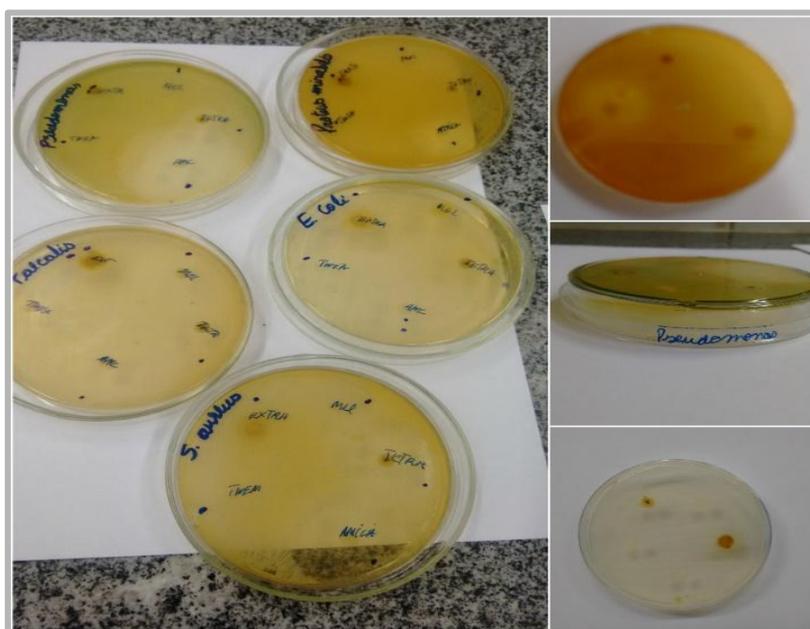
Também foi adicionado nesta mesma placa um controle positivo e um controle contendo apenas o meio de cultura e inóculo bacteriano de todos os micro-organismos para teste de viabilidade (CLSI, 2005), como controle positivo foram adicionados 100 μL de Amicacina, cuja concentração inicial era 2048 $\mu\text{g}/\text{mL}$, e que sofreu uma diluição seriada em razão de dois, obtendo-se as concentrações 1024, 512, 256, 128 e 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$. As placas foram assepticamente fechadas e incubadas a 35°C por 24 horas, para realização da leitura. Para facilitar a detecção de bactérias metabolicamente ativas e bactérias mortas durante os experimentos, pode-se empregar o uso da resazurina, que é um corante importante em testes de microdiluição, pois permite a visualização de crescimento microbiano em volumes pequenos de solução em microplacas. A resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) é um indicador fluorescente e colorimétrico com propriedade redox (FARIAS et al., 2017). Após o tempo de incubação, realizou-se a leitura dos resultados e para facilitar, adicionou-se 20 μL da solução de resazurina sódica (0,01%; p/v) (SIGMA), reconhecido como indicador colorimétrico de oxido-redução para bactérias. (FARIAS et al 2017). Deste modo, os poços que apresentaram a coloração azul não identificaram qualquer metabolismo bacteriano, enquanto os poços que tiveram sua cor alterada de azul para violeta, foram capazes de evidenciar o metabolismo bacteriano, indicando a não inibição ou a sobrevivência das bactérias mediante a ação dos reagentes nas determinadas concentrações.

Foram utilizadas 3 placas de 96 poços em que foram adicionados 2 micro-organismos (*S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *P. mirabilis*), contendo ainda os 3 reagentes (amicacina, mel e geoprópolis), e 3 poços de controle de viabilidade para cada um dos micro-organismos. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A leitura dos resultados foi realizada medindo-se o diâmetro dos halos, em mm, formados ao redor dos discos que foram impregnados com os reagentes, que quando maior que 6 mm se torna visível e indica suscetibilidade do micro-organismo a substância testada como pode ser observado na figura 1 (FARIAS, et al., 2017). Esse método é qualitativo, ou seja, permite classificar a amostra bacteriana em suscetível, intermediária ou resistente ao antimicrobiano (SANTOS et al 2010; SEJAS et al., 2003).

Figura1: Placas com os micro-organismos incubadas em AMH apresentando halos de inibição.



Fonte: Acervo pessoal, 2018.

Como observado na figura 1, houve formação de halos de inibição frente alguns micro-organismos, para facilitar a visualização dos dados obtidos, a tabela a seguir foi elaborada com o objetivo de indicar os tamanhos dos halos de inibição que formaram-se ou não pelos micro-organismos quando em contato com os reagentes testados e a sensibilidade aos antibióticos utilizados como controle que já são bem descritos na literatura, cujos valores representam a média aritmética dos resultados em triplicata, realizado de forma à $D_1+D_2+D_3\div 3$; onde somou se o diâmetros de todos os halos formados pelos reagentes frente ao micro-organismo e a soma foi dividida por três.

Tabela1: Verificação da atividade antimicrobiana frente as cepas no método de disco de difusão.

| Micro-organismos | SUBSTÂNCIAS | | | | |
|--|-------------|---------|------------|--------------|-----------|
| | MEL | EXTRATO | TWEN 80 | TETRACICLINA | AMICACINA |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | ≤ 6 | 8 | ≤ 6 | 38 | 40 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | ≤ 6 | 9 | ≤ 6 | 28 | 43 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | ≤ 6 | ≤ 6 | ≤ 6 | 10 | 51 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | ≤ 6 | 9 | ≤ 6 | 16 | 29 |
| <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25922 | ≤ 6 | 8 | ≤ 6 | 8 | 28 |

Legenda: ≤ 6 = Diâmetro do halo menor/igual à 6 mm. **Fonte:** Acervo pessoal, 2018.

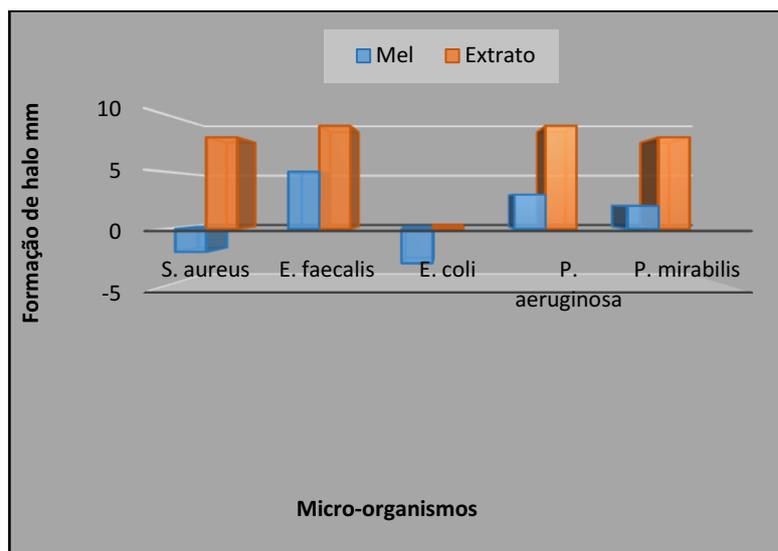
Como observado na tabela 1, nota-se que não ocorreu a inibição de crescimento dos micro-organismos testados com o mel, isso mostra que o mesmo não foi capaz de inibir crescimento das cepas; já que o mel foi coletado em um período pós chuvas, acredita-se que isto tenha influência do uma vez que, Pimentel et al. (2013), analisando amostras de mel de *Melipona compressipes manaoensis* provenientes de Manaus, confirmaram a atividade bactericida contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* e *Klebsiella sp.* Esses autores utilizando o mel coletado durante o período chuvoso, realizaram o ensaio de disco-difusão, e confirmaram a inibição do crescimento de *Escherichia coli* apenas quando o mel foi testado na forma não diluída; mas quando o mel foi coletado na estação seca, o mesmo foi capaz de inibir o crescimento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e outros micro-organismos, mesmo em concentrações mais diluídas, comprovando a influência da sazonalidade na atividade bacteriana do mel.

Guerrini et al. (2009) também confirmam o potencial bacteriano do mel de abelhas nativas do Equador frente ao *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Entretanto, a atividade contra *Candida* mostrou-se limitada. Nishio et al. (2016) avaliaram a ação antimicrobiana do mel de *Melipona compressipes manaoensis* na estação da seca e obtiveram resultados superiores contra à microrganismos Gram positivos quando comparados aos microrganismos Gram negativos.

Diversos outros fatores podem ter contribuído para esse resultado, como por exemplo, as características químicas dos reagentes que podem dificultar a dispersão no meio de cultura, assim como outras interferências do teste adotado. Outros interferentes foram relatados por Nascimento (2007), que constatou que o método de difusão em disco pode ter vários interferentes, como a volatilidade de solventes, a dificuldade de se difundir no ágar, sua insolubilidade em água e complexidade química. Também pode ser devido a estruturas morfológicas de alguns micro-organismos que dificultam ação de

constituintes do mel, são as membranas externas que acabam por se tornar um obstáculo para o alcance e ação dos mesmos. Os micro-organismos gram positivos se diferem na organização de suas estruturas que são encontradas externamente à membrana plasmática onde existe uma estrutura, que é espessa e apresenta uma larga camada de peptideoglicanos denominada membrana externa. (CASTRO, 2013). No gráfico 1, veremos a ação dos reagentes frente aos micro-organismos testados e comparação de potencial de ação deles que contra *S. aureus* e *E. coli* ficou negativo para o mel, dando a entender que os micro-organismos se alimentaram dos açúcares presentes nele.

Gráfico 1: Sensibilidade dos micro-organismos em teste de disco de difusão frente os reagentes testados.

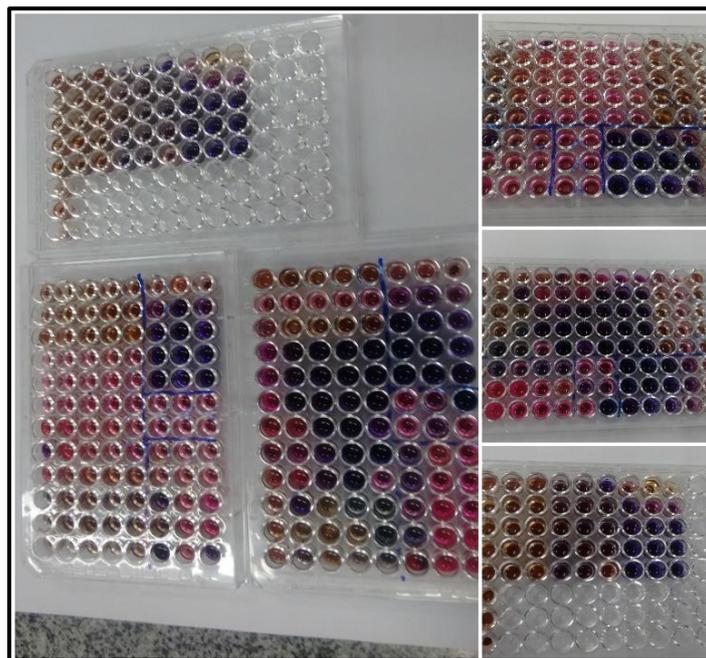


Fonte: Acervo pessoal, 2018.

Como mostrado no gráfico anterior a geoprópolis foi capaz de inibir crescimento bacteriano das cepas *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* e *E. faecalis*, demonstrando um potencial efeito bacteriostático para algumas cepas.

Após a adição da solução de resazurina sódica (0,01%; p/v) (SIGMA), a placa foi incubada em estufa por uma hora a 35° C, em seguida, foi possível realizar a leitura dos resultados, que compreenderam a visualização dos poços com Amicacina que apresentaram a coloração azul, ou seja, não identificaram qualquer metabolismo bacteriano e os poços que tiveram sua cor alterada de azul para violeta, significando que foram capazes de evidenciar o metabolismo bacteriano, indicando a não inibição ou a sobrevivência das bactérias mediante a ação dos reagentes em uma determinada concentração como mostra a figura 2 (FARIAS et al., 2017).

Figura2: Microplacas de 96 poços no teste de microdiluição para leitura após a incubação.



Fonte: Acervo pessoal, 2018.

A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano verificado nos orifícios, quando comparado com o crescimento controle ocorrendo apenas nos poços com Amicacina sendo, portanto, a espécie estudada sensível ao controle positivo utilizado no estudo (CLSI, 2005), enquanto que nos poços com os outros reagentes foi possível detectar nos poços com os reagentes nas concentrações de 100, para as cepas *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* e *E. faecalis* um efeito bacteriostático, que é quando ocorre inibição parcial do crescimento bacteriano e a coloração fica entre o azul e o violeta (MOTA et al., 2010). As concentrações imediatamente inferiores a CIM, são suficientes para demonstrar o efeito bactericida dos produtos naturais, visto que o efeito bacteriostático é determinado pela ausência de crescimento na placa de petri (POZZATTI et al., 2009). De acordo com CLSI (2005), a CBM é considerada a menor concentração que impediu o crescimento visível das bactérias ou permitiu a formação de até 3 UFC. Com a leitura dos resultados pode-se identificar a CIM dos reagentes sendo, portanto, as espécies estudadas sensíveis aos reagentes utilizados nas maiores concentrações (100 µg/mL), visto que de acordo o CLSI (2005), a cepas são consideradas sensíveis se a CIM apresentar-se menor ou igual a 16 µg/mL, e apresentaria perfil de resistência se fosse acima de 32 µg/mL. Além disso, avaliando os poços com os controles foi possível garantir a segurança dos resultados, visto que a viabilidade das cepas estudadas foi confirmada.

Essa pesquisa é pioneira na avaliação da atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis de jandaíra contra a cepa *Proteus mirabilis* ATCC 25922, tendo em vista que não há relatos na literatura de estudos com esta bactéria gram-negativas e os reagentes.

CONCLUSÕES

Neste estudo, observamos que a geoprópolis de Jandaíra exibe efeitos inibitórios sobre alguns agentes patogênicos, foi possível constatar a atividade dos reagentes diante de algumas das espécies testadas, ressaltando a necessidade de estudos permanentes para determinar possíveis interferências ou potencialidade dessa atividade através de associação com outros compostos de origem natural ou sintética, para que possa ser um empregado como nova opção terapêutica em infecções oportunistas causadas pelos micro-organismos estudados.

Sugerem-se novos estudos com maiores concentrações dos reagentes utilizados e diferentes solventes para maior gama de opções e diferentes resultados. Propõe-se a ampliação dos estudos com o mel de diferentes estações do ano para a investigação do potencial biológico e farmacológico relacionado com clima e pluviosidade.

REFERÊNCIAS

ALVES, R. R. N. et al. 2008. Aspectos sócio-econômicos do comércio de plantas e animais medicinais em área metropolitanas do Norte e Nordeste do Brasil. Campina Grande: **Revista de Biologia e Ciências da Terra** v.8 n 1: p: 181-189. Disponível em: < <https://pdfs.semanticscholar.org/5807/73d0b968a3c41d2bebf7d1d0d02b13808a14.pdf> > acesso em 03 de fevereiro de 2018.

ALVES, R. R. N. et al. Animal-based remedies as complementary medicines in Santa Cruz do Capibaribe, Brazil. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 44, jul. 2008. <https://link.springer.com/article/10.1186/1472-6882-8-44> > acesso em 05 de fevereiro de 2018.

ARAÚJO, MARIA JOSÉ ABIGAIL. Geoprópolis de *Melipona fasciculata* SMITH: ações citotóxica, imunomoduladora, antibacteriana e antifúngica/ Botucatu: [s.n.], 2013 **Dissertação** Apresentada a Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Medicina de Botucatu para obtenção do grau de Doutor. Disponível em: < <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/104554> > acesso em 04 de fevereiro de 2018.

BIJLSMA, L.; BRUIJN. L de. L. M.; MARTENS, E. P.; SOMMEIJER, M. J. Water content of stingless bee honeys (Apidae, Meliponini): interspecific variation and comparison with honey of *Apis mellifera*. **Apidologie**, v. 37, n. 4, p. 480-486, 2006. Disponível em: < <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00892215/document> > acesso em 05 de fevereiro de 2018.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Meliponini Lepeletier, 1836. In: Moure, J. S., Urban, D. & Melo, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region** - online version. Disponível em:<<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>. 2013>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2018.

CASTRO, Fabíola Fernandes dos Santos. Identificação e avaliação da atividade antimicrobiana de um novo peptídeo isolado da peçonha da vespa social *Polybia dimorpha* contra bactérias multirresistentes. 2013. 81 f., il. **Dissertação** (Mestrado em Ciências da Saúde)—Universidade de Brasília, Brasília, 2013. Disponível em:< <http://repositorio.unb.br/handle/10482/13103> > acesso em 04 de fevereiro de 2018.

CARTAXO, RODRIGO TEODORO. Francionamento bioguiado e caracterização química de compostos com atividade antimicrobiana de geoprópolis de Uruçu nordestina: abelha indígena sem ferrão *Melipona scutellaris*. 2012. 78 f. **Dissertação** (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS, Alfenas, MG, 2012 . Disponível em: < <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/186>> acesso em 04 de fevereiro de 2018.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada - 8ª ed. M2-8, vol. 23, n.1. Substitui a Norma M2-A7, v.20, n.1. 2005. Disponível em:< http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf> acesso em 04 de fevereiro de 2018.

CRUZ, D. O. et al. Adaptação e comportamento de pastejo da abelha jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke) em ambiente protegido. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 26, n. 03, p. 293-298, 2004. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000077&pid=S1806-6690201200030002400007&lng=en> acesso em 05 de fevereiro de 2018.

ESTRELA, C. R. A. Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares. 2000. 88f. **Dissertação Mestrado** em Microbiologia – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e de Saúde Pública, Goiânia.2000. Disponível em:<<https://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/atividade-antifungica-de-anadenanthera-macrocarpa-benth-brenam-sobre-candida-krusei-27806>> acesso em 05 de fevereiro de 2018.

FARIAS, T.C. et al.; Screening antibacteriano do (+) - α – pineno frente a cepas bacterianas gram negativas. II Congresso Brasileiro de Ciências da Saúde, 2017, Campina Grande. **Anais II CONBRACIS**. Campina Grande - PB: Realize, 2017. v.1.

FERREIRA, F. S. et al. Zootherapeutics utilized by residents of the community Poço Dantas, Crato-CE, Brazil. **JOURNAL OF ETHNOBIOLOGY AND ETHNOMEDICINE**, v. 5, n. 21, ago. 2009. Disponível em: <https://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-4269-5-21> > acesso em 05 de fevereiro de 2018.

GUERRINI, A. et al. Ecuadorian stingless bee (*Meliponinae*) honey: a chemical and functional profile of an ancient health product. **Food Chemistry**, v. 144, p. 1413-1420, 2009. Disponível em:< <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301598369>> acesso em 05 de fevereiro de 2018.

KERR, W. E; CARVALHO, G. A; NASCIMENTO, V. A. Abelha Uruçu: Biologia, Manejo e Conservação. Belo Horizonte: **FUNDAÇÃO ACANGAÚ**, 1996. N 2. Disponível em: < <http://www.abelhasemferrao.com/wp-content/uploads/2013/05/Abelha-Uru%C3%A7u-Warwick-Estevam-Kerr.pdf> > acesso em 05 de fevereiro de 2018.

KOFFLER, S. et al. Temporal Variation in Honey Production by the Stingless Bee *Melipona subnitida* (Hymenoptera: Apidae): Long-Term Management Reveals its Potential as a Commercial Species in Northeastern Brazil. *JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY ADVANCE*, v. 108, n. 3, p. 858-867, 2015. Disponível em:< <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=pc&id=1035525&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22MENEZES,%20P.%20R.%22&qFacets=autoria:%22MENEZES,%20P.%20R.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

KONEMAN, **Diagnóstico Microbiológico: texto e Atlas colorido**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 6 ed, 2008 p. 48-67. CP2 Introdução à Microbiologia - Parte II: Orientações para a Coleta, Transporte, Processamento, Análise e Relato de Culturas de Fontes Específicas de Amostras ISBN: 9788527713771. Disponível em: < <https://www.saraiva.com.br/diagnostico-microbiologico-texto-e-atlas-colorido-6-ed-2226996.html>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

MOTA, LETÍCIA M. et al. Uso racional de antimicrobianos. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, Ribeirão Preto, v. 43, n. 2, p. 164-172, june 2010. ISSN 2176-7262. Disponível em: <<http://www.periodicos.usp.br/rmrp/article/view/175/176>>. Acesso em: 10 mar. 2018.

NASCIMENTO, P. F. C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Rev. Bras. Farm.** v. 17, n.1, 2007.

NISHIO, E. K. et al.. Antibacterial synergic effect of honey from two stingless bees: *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836, and *S. postica* Latreille, 1807. **Scientific Reports**. 2016 v 6 :21641. Disponível em: <mar. 2018.<https://www.nature.com/articles/srep21641>>. Acesso em: 10

OLIVEIRA, F. L. et al. Influência das variações climáticas na atividade de vôo das abelhas jandaíras *Melipona subnitida* Ducke (Meliponinae). **REVISTA CIÊNCIA**

AGRONÔMICA, v. 43, n. 3, p. 598-603, 2012. Disponível em: < <http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0912-2.pdf> > acesso em 05 de fevereiro de 2018.

PIMENTEL, R. B. Q.; COSTA, C. A.; ALBUQUERQUE, P. M.; DUVOISIN JUNIOR, S. 2013. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manaosensis* and commercial honey. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 151. Disponível em:< <https://bmccomplementalmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1472-6882-13-151>> acesso em 05 de fevereiro de 2018.

PINHEIRO, CAROLINA DE GOUVEIA MENDES DA ESCÓSSIA. Mel de abelha jandaíra (*Melipona subnitida*) do Estado do Rio Grande do Norte. 2016. 133 f. **Tese Doutorado** - Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO, Mossoró, 2016 Disponível em:< <http://bdtd.ufersa.edu.br/handle/tede/649>> acesso em 05 de fevereiro de 2018.

POZZATTI, P. et al. Comparison of the susceptibilities of clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to essential oils. *Mycoses*. 2009;53(1):12-5. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19207850>> acesso em 05 de fevereiro de 2018.

QUEIROZ C. J. et al. Estudos de meliponíneos, com ênfase a *Melipona subnitida* D. no município de Jandaíra, RN. **REVISTA DE BIOLOGIA E CIÊNCIAS DA TERRA**, vol. 4, núm. 1, primer semestre, 2004, p. 0 Universidade Estadual da Paraíba-Paraíba, Brasil. Disponível em:<www.redalyc.org/articulo.oa?id=50040109 >acesso em 05 de fevereiro de 2018.

SANTOS A. RODRIGUES S. S. F. B.; OLIVEIRA E. J. A.; AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Croton rhamnifolioides*. **ANAIS do Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica** – Ed 5 – 2010.

SEJAS, L.M.; SILBERT, S.; REIS, A.O.; SADER, H.S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.39, n.1, p.27-35,

2003. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-24442003000100006&script=sci_abstract&tlng=pt> acesso em 04 de fevereiro de 2018.

SFORCIN JM E BANKOVA V. Propôles: existe um potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos **J Ethnopharmacol** v. 133: p.253-260. 2011. Disponível em: < <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1022907/1/Historico.pdf>> acesso em 04 de fevereiro.

SOUZA, Silvana Alves de. Estudo químico, atividade antinociceptiva, antifúngica e potencial antioxidante da geoprópolis produzida pela jandaíra (*Melipona subnitida* Ducke). 2016. 130 f. **Tese** (Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. **Sociobiologia** 61: p. 560-565. 2014.

STEARMAN, A. M. et al. Stradivarius in the Jungle: Traditional Knowledge and the Use of “Black Beeswax” Among the Yuquí of the Bolivian Amazon. **HUMAN ECOLOGY**, v. 36, n. 2, p. 149-159, abr. 2008. Disponível em:<https://www.researchgate.net/publication/226605252_Stradivarius_in_the_Jungle_Traditional_Knowledge_and_the_Use_of_Black_Beeswax_Among_the_Yuqui_of_the_Bolivian_Amazon> acesso em 05 de fevereiro de 2018.

WILSON, E. O. 1989. **Biofilia**. Fondo de Cultura Económica, México, D.F., México, 283pp. Disponível em:< <https://www.elfondoonline.com/Detalle.aspx?ctit=014477E>> acesso em 05 de fevereiro.

ANEXOS



Revista Verde

de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável



Artigo será submetido à Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável;
INTERDISCIPLINAR B2 ISSN: 19818203



ROTEIRO PARA A ELABORAÇÃO DO ARTIGO

Línguas e áreas de estudo

Os artigos submetidos à Revista Verde podem ser elaborados em Português, Inglês ou Espanhol e devem ser produto de pesquisa nas áreas de Ciências Agrárias, Ciências Ambientais, Ciências de Alimentos, Biologia, Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.

Composição sequencial do artigo

a) Título: no máximo com 18 palavras, em que apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula; entretanto, quando o título tiver um subtítulo, ou seja, com dois pontos (:), a primeira letra da primeira palavra do subtítulo (ao lado direito dos dois pontos) deve ser maiúscula.

b) Nome(s) do(s) autor(es):

- Deverá(ao) ser separado(s) por vírgulas, escrito sem abreviações, nos quais somente a primeira letra deve ser maiúscula e o último nome sendo permitido o máximo 6 autores

- Colocar referência de nota no final do último sobrenome de cada autor para fornecer, logo abaixo, endereço institucional, incluindo telefone, fax e E-mail:

- Em relação ao que consta na primeira versão do artigo submetida à Revista, não serão permitidas alterações posteriores na sequência nem nos nomes dos autores.

c) Resumo: no máximo com 250 palavras.

d) Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título, separadas por pontos e com a primeira letra da primeira palavra maiúscula e o restante minúscula.

e) Título em inglês: terá a mesma normatização do título em Português ou em Espanhol, sendo itálico.

f) Abstract: no máximo com 250 palavras, devendo ser tradução fiel do Resumo.

g) Key words: terá a mesma normatização das palavras-chave.

h) Introdução: destacar a relevância da pesquisa, inclusive através de revisão de literatura, em no máximo 2 páginas. Não devem existir, na Introdução, equações, tabelas, figuras nem texto teórico básico sobre determinado assunto, mas, sim, sobre resultados de pesquisa. Deve constar elementos necessários que justifique a importância do trabalho e no último parágrafo apresentar o(s) objetivo(s) da pesquisa.

i) Material e Métodos: deve conter informações imprescindíveis que possibilitem a repetição da pesquisa, por outros pesquisadores.

j) Resultados e Discussão: os resultados obtidos devem ser discutidos e interpretados à luz da literatura.

k) Conclusões: devem ser escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se apenas nos resultados apresentados.

l) Agradecimentos (facultativo)

m) Literatura Citada: O artigo submetido deve ter obrigatoriamente 70% de referências de periódicos, sendo 40% dos últimos oito anos. Não serão aceitas citações bibliográficas do tipo apud ou citado por, ou seja, as citações deverão ser apenas das referências originais.

Para os artigos escritos em Inglês, título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português e, para os artigos em Espanhol, em Inglês; vindo em ambos os casos primeiro no idioma principal. Outros tipos de contribuição (Nota Técnica) para a revista poderão ter a sequência adaptada ao assunto.

Edição do texto

a) Processador: Word for Windows

b) Texto: fonte Times New Roman, tamanho 10. Não deverão existir no texto palavras em negrito nem em itálico, exceto para o título em inglês, itens e subitens, que deverão ser em negrito, e os nomes científicos de espécies vegetais e animais, que deverão ser em itálico. Em equações, tabelas e figuras não deverão existir itálico e negrito. Evitar parágrafos muito longos.

c) Espaçamento: simples entre o título, nome(s) do(s) autor(es), resumo e abstract; simples entre item e subitem.

d) Parágrafo: 0,75 cm.

e) Página: Papel A4, orientação retrato, margens superior e inferior de 2 cm e esquerda e direita de 1,5 cm, no máximo de 20 páginas não numeradas.

f) Todos os itens em letras maiúsculas, em negrito, alinhados à esquerda. Os subitens deverão ser em negrito e somente a primeira letra maiúscula.

g) As grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão.

h) Tabelas e Figuras (gráficos, mapas, imagens, fotografias, desenhos)

- As tabelas e figuras com texto em fonte Times New Roman, tamanho 9-10, e ser inseridas logo abaixo do parágrafo onde foram citadas a primeira vez. Exemplos de citações no texto: Figura 1; Tabela 1. Tabelas e figuras que possuem praticamente o mesmo título deverão ser agrupadas em uma única tabela ou figura criando-se, no entanto, um indicador de diferenciação. A letra indicadora de cada sub-figura em uma figura agrupada deve ser maiúscula e com um ponto (exemplo: A.), posicionada ao lado esquerdo superior da figura. As figuras agrupadas devem ser citadas no texto, da seguinte forma: Figura 1A; Figura 1B; Figura 1C.

- As tabelas não devem ter tracejado vertical e o mínimo de tracejado horizontal. Exemplo do título, o qual deve ficar acima da tabela: Tabela 1. Estações do INMET selecionadas. Em tabelas que apresentam a comparação de médias, mediante análise estatística, deverá haver um espaço entre o valor numérico (média) e a letra. As unidades deverão estar entre parêntesis.

- As figuras não devem ter bordadura e suas curvas (no caso de gráficos) deverão ter espessura de 0,5 pt, podendo ser coloridas, mas sempre possuindo marcadores de legenda diversos. Exemplo do título, o qual deve ficar acima da figura: Figura 1. Perda acumulada de solo em função do tempo de aplicação da chuva simulada. Para não se tornar redundante, as figuras não devem ter dados constantes em tabelas. Em figuras agrupadas, se o título e a numeração dos eixos x e y forem iguais, deixar só um título centralizado e a numeração em apenas um eixo. Gráficos, diagramas (curvas em geral) devem vir em imagem vetorial. Quando se tratar de figuras bitmap (mapa de bit), a resolução mínima deve ser de 300 bpi. Os autores deverão primar pela qualidade de resolução das figuras, tendo em vista, boa compreensão sobre elas. As unidades nos eixos das figuras devem estar entre parêntesis.

Exemplos de citações no texto

As citações devem conter o sobrenome do autor, que podem vir no início ou no final. Se colocadas no início do texto, o sobrenome aparece, apenas com a primeira letra em maiúsculo.

Ex.: Segundo Chaves (2015), os baixos índices de precipitação [...]

Quando citado no final da citação, o sobrenome do autor aparece com todas as letras em maiúsculo e entre parênteses.

Ex.: Os baixos índices de precipitação (CHAVES, 2015)

Citação direta

É a transcrição textual de parte da obra do autor consultado.

a) Até três linhas

As citações de até três linhas devem ser incorporadas ao parágrafo, entre aspas duplas.

Ex.:

De acordo com Alves (2015 p. 170) “as regiões semiáridas têm, como característica principal, as chuvas irregulares, variando espacialmente e de um ano para outro, variando consideravelmente, até mesmo dentro de alguns quilômetros de distância e em escalas de tempo diferentes, tornando as colheitas das culturas imprevisíveis”.

b) Com mais de três linhas

As citações com mais de três linhas devem figurar abaixo do texto, com recuo de 4 cm da margem esquerda, com letra tamanho 10, espaço simples, sem itálico, sem aspas, estilo “bloco”.

Ex.:

Os baixos índices de precipitação e a irregularidade do seu regime na região Nordeste, aliados ao contexto hidrogeológico, notadamente no semiárido brasileiro, contribuem para os reduzidos valores de disponibilidade hídrica na região. A região semiárida, além dos baixos índices pluviométricos (inferiores a 900 mm), caracteriza-se por apresentar temperaturas elevadas durante todo ano, baixas amplitudes térmicas em termos de médias mensais (entre 2 °C e 3 °C), forte insolação e altas taxas de evapotranspiração (CHAVES, 2015, p. 161).

Citação Indireta

Texto criado pelo autor do TCC com base no texto do autor consultado (transcrição livre).

Citação com mais de três autores

Indica-se apenas o primeiro autor, seguido da expressão et al.

Ex.:

A escassez de água potável é uma realidade em diversas regiões do mundo e no Brasil e, em muitos casos, resultante da utilização predatória dos recursos hídricos e da intensificação das atividades de caráter poluidor (CRISPIM et al., 2015).

SISTEMA DE CHAMADA

Quando ocorrer a similaridade de sobrenomes de autores, acrescentam-se as iniciais de seus prenomes; se mesmo assim existir coincidência, colocam-se os prenomes por extenso.

Ex.:

(ALMEIDA, R., 2015)

(ALMEIDA, P., 2015)

(ALMEIDA, RICARDO, 2015)

(ALMEIDA, RUI, 2015)

As citações de diversos documentos do mesmo autor, publicados num mesmo ano, são distinguidas pelo acréscimo de letras minúsculas, em ordem alfabética, após a data e sem espaçamento, conforme a lista de referências.

Ex.:

Segundo Crispim (2014a), o processo de ocupação do Brasil caracterizou-se pela falta de planejamento e consequente destruição dos recursos naturais.

A vegetação ciliar desempenha função considerável na ecologia e hidrologia de uma bacia hidrográfica (CRISPIM, 2014b).

As citações indiretas de diversos documentos de vários autores, mencionados simultaneamente, devem ser separadas por ponto e vírgula, em ordem alfabética.

Vários pesquisadores enfatizam que a pegada hídrica é um indicador do uso da água que considera não apenas o seu uso direto por um consumidor ou produtor, mas, também, seu uso indireto (ALMEIDA, 2013; CRISPIM, 2014; SILVA, 2015).

a) Quando a citação possuir apenas um autor: Folegatti (2013) ou (FOLEGATTI, 2013).

b) Quando a citação possuir dois autores: Frizzone e Saad (2013) ou (FRIZZONE; SAAD, 2013).

c) Quando a citação possuir mais de dois autores: Botrel et al. (2013) ou (BOTREL et al., 2013).

Quando a autoria do trabalho for uma instituição/empresa, a citação deverá ser de sua sigla em letras maiúsculas. Exemplo: EMBRAPA (2013).

Literatura citada (Bibliografia)

As bibliografias citadas no texto deverão ser dispostas na lista em ordem alfabética pelo último sobrenome do primeiro autor e em ordem cronológica crescente, e conter os nomes de todos os autores. Citações de bibliografias no prelo ou de comunicação pessoal não são aceitas na elaboração dos artigos.

A seguir, são apresentados exemplos de formatação:

a) Livros

NÃÃS, I. de A. Princípios de conforto térmico na produção animal. 1.ed. São Paulo: Ícone Editora Ltda, 2010. 183p.

b) Capítulo de livros

ALMEIDA, F. de A. C.; MATOS, V. P.; CASTRO, J. R. de; DUTRA, A. S. Avaliação da qualidade e conservação de sementes a nível de produtor. In: Hara, T.; ALMEIDA, F. de A. C.;CAVALCANTI MATA, M. E. R. M. (eds.). Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais. Campina Grande: UFPB/SBEA, 2015. cap.3, p.133-188.

c) Revistas

PEREIRA, G. M.; SOARES, A. A.; ALVES, A. R.; RAMOS, M. M.; MARTINEZ, M. A. Modelo computacional para simulação das perdas de água por evaporação na irrigação por aspersão. Engenharia Agrícola, Jaboticabal, v.16, n.3, p.11-26, 2015. <http://dx.doi.org/10.18378/rebes.v7i2.4810>.

d) Dissertações e teses

DANTAS NETO, J. Modelos de decisão para otimização do padrão de cultivo em áreas irrigadas, baseados nas funções de resposta da cultura à água. 2015. 125f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal. 2015.

e) Trabalhos apresentados em congressos (Anais, Resumos, Proceedings, Disquetes, CD Roms)

WEISS, A.; SANTOS, S.; BACK, N.; FORCELLINI, F. Diagnóstico da mecanização agrícola existente nas microbacias da região do Tijuca da Madre. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 25, e Congresso Latino-Americano de Engenharia Agrícola, 2, 1996, Bauru. Anais ... Bauru: SBEA, 2010. p.130.

f) Informações do Estado

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. Portaria nº 216, de 15 de setembro de 2004. Aprova o regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 2004.

No caso de CD Rom, o título da publicação continuará sendo Anais, Resumos ou Proceedings mas o número de páginas será substituído pelas palavras CD Rom.

Outras informações sobre normatização de artigos

a) Na descrição dos parâmetros e variáveis de uma equação deverá haver um traço separando o símbolo de sua descrição. A numeração de uma equação deverá estar entre parêntesis e alinhada à direita: exemplo: (1). As equações deverão ser citadas no texto conforme os seguintes exemplos: Eq. 1; Eqs. 3 e 4.

b) Todas as letras de uma sigla devem ser maiúsculas; já o nome por extenso de uma instituição deve ter maiúscula apenas a primeira letra de cada palavra.

c) Nos exemplos seguintes de citações no texto de valores numéricos, o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade:

10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 l (litros) = 5 L; 45 ml = 45 mL; l/s = L s⁻¹; 27°C = 27 °C; 0,14 m³/min/m = 0,14 m³ min⁻¹ m⁻¹; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; 2 toneladas = 2 t; mm/dia = mm d⁻¹; 2x3 = 2 x 3 (deve ser separado); 45,2 - 61,5 = 45,2-61,5 (deve ser junto).

A % é a única unidade que deve estar junto ao número (45%). Quando no texto existirem valores numéricos seguidos, que possuam a mesma unidade, colocar a unidade somente no último valor (Exemplos: 20 m e 40 m = 20 e 40 m; 56,1%, 82,5% e 90,2% = 56,1, 82,5 e 90,2%).

d) Quando for pertinente, deixar os valores numéricos no texto, tabelas e figuras com no máximo três casas decimais.

f) Os títulos das bibliografias listadas devem ter apenas a primeira letra da primeira palavra maiúscula, com exceção de nomes próprios. O título de eventos deverá ter apenas a 1ª letra de cada palavra maiúscula.

RECOMENDAÇÃO IMPORTANTE: Recomenda-se aos autores a consulta na página da Revista (<http://revista.gvaa.com.br/>) de artigos publicados, para suprimir outras dúvidas relacionadas à normatização de artigos, por exemplo, formas de como agrupar figuras e tabelas.

DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA

Declaramos que concordamos com a submissão e eventual publicação na Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável (RVADS), do artigo intitulado: _____, dos autores abaixo relacionados, tendo como Autor Correspondente o Sr. _____, que ficará responsável por sua tramitação e correção. Declaramos, ainda, que o referido artigo se insere na área de conhecimento: _____, tratando -se de um trabalho original, em que seu conteúdo não foi ou não está sendo considerado para publicação em outra Revista, quer seja no formato impresso e/ou eletrônico.

Local e data

ORDEM DOS AUTORES NO ARTIGO

NOME COMPLETO DOS AUTORES

ASSINATURA

1
2
3

4

5

Obs.: O presente formulário deverá ser preenchido, assinado e enviado para o e-mail: rvadsgvaa@gmail.com.