

# ATUAÇÃO DO ÓLEO FLORAL DE *Byrsonima sericea* SOBRE CEPAS DE FUNGOS EM NINHOS DE ABELHAS DA TRIBO CENTRIDINI

CAPINAN, Waldson & SILVA, Maise

## INTRODUÇÃO

Existem espécies de plantas que produzem óleo, como recurso floral, coletado por grupos particulares de abelhas (Alves-dos-Santos *et al.*, 2007). Os óleos florais são substâncias compostas por ácidos graxos livres, monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos produzidas por estruturas florais denominadas elaióforos (Simpson & Neff, 1981; Buchmann, 1987). Flores produtoras de óleo foram descritas em oito famílias de plantas: Iridaceae, Orchidaceae, Curcubutaceae, Primulaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae, Scrophulariaceae e Solanaceae (Vogel & Cocucci, 1995). E as abelhas da tribo Centridini parecem ser o maior grupo coletor desta recompensa floral (Buchmann, 1987; Alves-dos-Santos *et al.*, 2007). Estudos indicam que abelhas *Centris* e *Epicharis* possuem interação estreita e previsível com espécies vegetais produtoras de óleo, especialmente plantas da família Malpighiaceae (Ramalho e Silva, 2002; Gaglianone, 2005; Aguiar *et al.* 2017) e são eficientes polinizadores das espécies desta família vegetal (Costa *et al.*, 2006; Oliveira *et al.* 2013). Alguns autores, afirmam que a interação entre plantas produtoras de óleo e abelhas Centridini deve ter ocorrido a milhares de anos atrás, depois do aparecimento de ambos os grupos na região na América do sul (p. ex. Neff e Simpson, 1981). As abelhas da tribo Centridini apresentam hábito solitário e as fêmeas coletam óleo floral durante a construção e fundação dos ninhos. Este recurso já foi observado como material de revestimento interno das células de cria, e fechamento da entrada do ninho (Alves-dos-Santos *et al.*, 2007). O óleo floral também é misturado ao pólen e depositado nas células de cria para servir de alimento à larva (Simpson & Neff, 1981). Estudos indicam que o óleo floral quando utilizado na construção dos ninhos pelas abelhas fêmeas, conferem impermeabilidade e proteção antimicrobiana (Simpson & Neff, 1981; Buchmann, 1987). Estudos anteriores indicaram elevada riqueza de fungos em ninhos de abelhas *Centris* e *Epicharis* Nóbrega & Silva (2015) e em flores de *Byrsonima sericea* (Pinto & Silva 2015). E mostraram que a riqueza de fungos observada em ninhos naturais e ninhos-armadilha foram muito semelhante ao observado em flores.

## OBJETIVO

Este trabalho teve o objetivo de avaliar a ação do óleo floral de *Byrsonima sericea* sobre o crescimento de fungos isolados de ninhos de abelhas *Centris*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo realizado por Nóbrega & Silva (2014) e Pinto & Silva (2015) analisaram riqueza de fungos associado a ninhos armadilha e naturais de abelhas da tribo Centridini. Foram isolados 25 morfoespécies de fungos em ninhos armadilha e 21 em naturais. Os gêneros mais representativos foram *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp, *Mucor* sp e *Alternaria*. Foram observadas 5 espécies que ainda não havia sido encontrada em ninhos de abelhas solitárias: *Bipolaris* sp, *Chrysosporium* sp, *Pythium insidiosum*, *Aureobasidium* sp e *Curvularia* sp. Neste estudo, o teste da ação do óleo floral foi realizado com cepas de *Aspergillus flavus* e *Penicillium* sp isolados de ninhos de abelhas *Centris* e/ou flores de *Byrsonima sericea* (vide Pinto & Silva, 2015 e Nóbrega & Silva 2015) e mantidos em biblioteca apropriada, em óleo mineral, em temperatura controlada de 22°C no Laboratório de Abelhas e Ecossistemas Terrestre da Faculdade de Tecnologia e Ciência (LABEE/FTC). Para o teste, os fungos foram rehidratados com 24h de antecedência do início do procedimento de inoculação. A extração do óleo de *B. sericea* foi realizada por sistema soxhlet, com solvente hexano, com volume inicial de 125mL, mantido constante durante todo o processo de extração (vide Lua 2011). O tempo de extração foi de 24h ininterrupta. Em seguida, o excesso do solvente foi eliminado em rotaevaporador (Rotacool CE, modelo 42470/00), acoplado a um sistema de resfriamento para condensação a vácuo constante. O cultivo do fungo foi realizado em meio de cultura com potato dextrose agar (CLSI,2004). Após preparação, o meio de cultura foi autoclavado a 120°C por 15 minutos para esterilização e melhor solubilização do agar. Em seguida, o meio de cultura foi distribuído em placas de Petri esterilizadas para posterior inoculação das cepas a serem analisadas. O teste da atividade antifúngica do óleo floral de *B. sericea* foi realizado com o método disco-difusão (CLSI, 2004), com modificações: uso do meio Agar potato dextrose ao invés de Mueller Hinton, padrão do modelo de referência (CLSI, 2004). Esta técnica apresenta resultado rápido e com baixo custo; além de permitir análise qualitativa do potencial inibitório do organismo testado quanto ao seu crescimento. O teste foi feito em triplicata. Em cada placa teste (n=3) foi introduzido cinco discos de papel embebido com óleo floral. Para comparação da ação inibitória do óleo foi realizado dois tipos de controle: uma placa com discos embebidos em óleo mineral (controle 1) e outra placa com discos sem adição de óleo (controle branco). Mesma técnica foi aplicada as duas cepas analisadas neste estudo. Após a adição do disco difusão cada placa foi incubada a temperatura de 25° C por 96 horas. No entanto a leitura do crescimento das cepas foi realizada a 24 horas, 48h e 96h.

## DISCUSSÃO E RESULTADOS

Após 24 horas foi observado crescimento de cepas de *Aspergillus flavus* e *Penicillium* sp apenas no controle 2 (placas sem adição de óleo) (Figura 1). Após 48 horas a placa teste e controle 1 não apresentaram áreas de crescimento das cepas testadas. Enquanto o controle 2 foi possível observar maior desenvolvimento comprada com a leitura de 24h. Após 96 horas de incubação, a placa teste (contendo óleo floral) e controle 1 (óleo mineral) apresentou desenvolvimento de cepas com formação de halo de inibição (figura 2 e 3) indicando que o óleo floral de *Byrsonima sericea* tem potencial inibitório de crescimento das cepas de *Penicillium* sp (80%) e *Aspergillus flavus* (70%). A placa controle houve crescimento de 100% dos fungos. Estudos anteriores que avaliaram a ação do óleo floral de *Byrsonima sericea* sobre o crescimento de *Alternaria* sp e *Aspergillus niger* mostraram que o halo de inibição foi mantido mesmo após 120h de exposição indicando que o óleo de *Byrsonima* tem ação positiva sobre fungos isolados de ninhos de abelhas Centridini (Capinan & Silva, 2015; Pinto & Silva, 2015). Esta análise preliminar também obteve resultado semelhante, mas ainda é necessário realizar o teste com exposição de 120h e realizar a medição do halo de inibição. Esta é uma abordagem diferente quanto a interação das abelhas coletoras de óleo e sua relação com flores de *Byrsonima*. A hipótese testada é que se esta relação é resultado de processo co-evolutivo a adaptação a coleta de óleo pode ter sido uma resposta a migração do comportamento para utilização do solo para construção de ninhos.

## CONCLUSÃO

Os dados, apesar de preliminar, indicam relação positiva entre o uso do óleo floral de *B. sericea* Centridini e baixa taxa de proliferação de fungos no interior de células de cria. O óleo de *Byrsonima* parece um eficiente inibidor do desenvolvimento das cepas de *Penicillium* sp e *A. flavus*. Ainda é necessário novos testes, e com outras cepas de fungos isoladas do ninho de abelhas e das flores da planta, para corroborar esta hipótese. A descoberta de novas substâncias que atuem efetivamente no crescimento de microrganismos é de extrema importância para o momento em que vivemos, onde agentes patológicos se mostram cada vez mais resistentes as drogas existentes no mercado, contribuindo assim para a elevação da qualidade de vida da população.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES-DOS-SANTOS, I.; MACHADO, I.C.; GAGLIONE, M.C. História natural das abelhas coletoras de óleo. *Oecologia Brasiliensis*, v. 11, n. 3, p. 242-255, 2007. <https://revistas.ufrj.br/index.php/oa/article/view/5693/4280>
- BUCHMANN, S.L. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:343-369. <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.es.18.110187.002015> COSTA *et al.*, 2006. Biologia reprodutiva simpátricas de Malpighiaceae em dunas costeiras da Bahia, Brasil. *Revista Brasil. Bot.*, V.29, n.1, p.103-1014, jan.-mar. <http://www.scielo.br/pdf/0D/rbb/v29n1/a10v29n1.pdf> Capinan,
- W. & SILVA, M. 2015. Variação do teor de óleo floral de Malpighiaceae em ninhos de abelhas solitárias e sua atuação como inibidor de atividade microbiana. *Anais1ª semana de tecnologia e ciências 3ª semana de iniciação científica da rede ftc*. Salvador – Bahia, p 90-95. [http://portal.ftc.br/images/secoes/IC/ANAIS2\\_SETEC\\_FTC\\_2015.pdf](http://portal.ftc.br/images/secoes/IC/ANAIS2_SETEC_FTC_2015.pdf) GAGLIANONE, M,C 2005. Nesting biology, seasonality and flower hosts of *Epicharis nigrita*, with a comparative analysis for the genus. *Studioson neotropical fauna and environment*, 40: 191-200. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01650520500250145>
- NÓBREGA, D. & SILVA, M. 2014. Flora microbiana associada a ninhos de abelhas Centridini (Hymenoptera, Apoidea). *AnaisII Seminário de Iniciação Científica da Rede FTC*. Salvador – Bahia, p 50-52. [http://portal.ftc.br/images/\\_downloads/2015/ANAIS\\_2014.pdf](http://portal.ftc.br/images/_downloads/2015/ANAIS_2014.pdf)
- PINTO, V. & SILVA, M. 2015. Fungos associados a flores de *Byrsonima sericea* DC podem ser observados em ninhos de abelhas coletoras de óleo? *Anais1ª semana de tecnologia e ciências 3ª semana de iniciação científica da rede ftc*. Salvador – Bahia, p 101-105. [http://portal.ftc.br/images/secoes/IC/ANAIS2\\_SETEC\\_FTC\\_2015.pdf](http://portal.ftc.br/images/secoes/IC/ANAIS2_SETEC_FTC_2015.pdf)
- RAMALHO, M. & SILVA, M. 2002. Relação Centridini flora oleífera: influência sobre diversidade em uma comunidade tropical. In *Anais do V Encontro Sobre Abelhas*. Ribeirão Preto-São Paulo, p.122-128.
- Simpson, B. B. & Neff, J. L. 1981. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68: 301-322. <http://www.jstor.org/stable/2398800>
- Vogel S, Cocucci A (1995) Pollination of *Basistemon* (Scrophulariaceae) by oil-collecting bees in Argentina. *Flora* 190: 353-363. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367253017306771>

## AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Tecnologia e Ciências (FTC), a EMBRAPA semiárido, aos técnicos de Laboratório de Microbiologia e Esterilização, especialmente dona Regina.