

Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. de Brasil y Venezuela

Antonio J. Manrique^{1*} y Weyder C. Santana²

¹ Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos. Área de Agronomía. San Juan de los Morros, Guárico. Venezuela.

*Correo electrónico: tonyman77@terra.com.

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, SP, Brasil

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron el contenido de flavonoides, las actividades antimicrobianas y antioxidante de los propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp., mediante el uso del extracto etanólico de propóleos (EEP) contra las bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*. El propóleos fue colectado en los estados Miranda y Guárico, Venezuela, y São Paulo, Brasil, durante el período de noviembre de 2003 a abril de 2004. Los contenidos de flavonoides fueron muy bajos, variando de 0,19 a 0,32%. La actividad antioxidante en todas las muestras fue menor a 22 seg, con media de 3 a 5 seg. Los EEP de *M. quadrifasciata* mostró la mayor actividad antioxidante. Los EEP de todas las muestras tuvieron una elevada actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*, con halos de inhibición de 11 a 30 mm, tanto en las muestras de Brasil como en las de Venezuela. El EEP de la *Nannotrigona* sp. mostraron mayor actividad antimicrobiana que los de otras abejas. Se concluye que los propóleos de las abejas sin aguijón estudiadas poseen elevadas actividades antioxidante y antimicrobianas, aunque los contenidos de flavonoides sean bajos.

Palabras clave: Propóleos, abejas sin aguijón, actividad antimicrobiana, flavonoides, actividad antioxidante.

Flavonoids, antibacterial and antioxidant activities of propolis of stingless bees, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula*, and *Nannotrigona* sp. from Brazil and Venezuela

ABSTRACT

Flavonoids content, antibacterial and antioxidant activities of Brazilian and Venezuelan propolis from stingless bees, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula*, and *Nannotrigona* sp. were evaluated using ethanolic extracts of propolis (EEP) against Gram positives bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus*. The propolis samples were collected in three locations, São Paulo state, Brazil, and Miranda and Guárico states, Venezuela, from November 2003 to April 2004. The results showed that the flavonoid content was very low for all samples, between 0.19 and 0.32%. The antioxidant activity was lower than 22 sec for all samples (3-5 sec of average). The EEP from *Melipona quadrifasciata* bees showed higher antioxidant activity than the other stingless bees. All EEP showed high antibacterial activity, with an inhibition halo between 11 to 30 mm, against *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus*, for all Brazilian and Venezuelan samples. EEP from *Nannotrigona* sp. showed higher antibacterial activity than other bees. The propolis studied showed high antibacterial and antioxidant activity, despite lower flavonoids percentages

Keywords: Propolis, stingless bees, antimicrobial activity, flavonoids, antioxidant activity

INTRODUCCIÓN

Los Meliponinos comprenden especies de abejas eusociales sin aguijón, nativas de las regiones tropicales y subtropicales del mundo, principalmente, de América (Michener, 2000) Se estima que el número de estas especies de abejas sea alrededor de 300 distribuidas desde México hasta el norte de Argentina, con mayor abundancia en la región amazónica (Roubik, 1989; Velthuis, 1997; Silveira *et al.*, 2002).

Oliveira y Cunha (2005) afirman que las abejas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758, no incursionan en bosques continuos y los Meliponinos actúan como los principales polinizadores. Biesmeijer (1997) refiere que polinizan entre 30 y 50% de las plantas de las tierras bajas en el trópico, siendo responsable por hasta 70 a 90% de la polinización de los árboles tropicales (Kerr *et al.*, 1994; Ramalho, 2004). Alrededor de 250 especies botánicas están adaptadas para ser polinizadas por Meliponinos (Heard, 1999).

El propóleo es un término genérico usado para denominar el material resinoso y balsámico colectado y procesado por las abejas melíferas a partir de fuentes vegetales, a las cuales se les agrega algunas enzimas (Bankova, 2005), mientras que los Meliponinos producen propóleos a los cuales le adicionan cera y tierra, razón por la cual se denomina en muchos casos geopropóleos (Nogueira-Neto, 1962; 1997). La actividad biológica de los propóleos de los Meliponinos ha sido medianamente estudiada, existiendo algunos estudios de los propóleos de meliponinos brasileiros, mientras que en Venezuela los estudios limitados.

Bankova *et al.* (1998b) identificaron más de 50 compuestos en geopropóleos de abejas sin aguijón brasileiras, principalmente terpenoides y fenólicos, sugiriendo, que variaciones en la composición química pudieran deberse a la especie de abeja. En un trabajo realizado por Dos Santos Pereira *et al.* (2003), el propóleo de *Tetragonisca angustula* Latreille, 1836, mostró un potencial antimicrobiano similar al de abeja *Apis*, siendo el *Staphylococcus aureus* el microorganismo más sensible de los ensayados.

Las propiedades antimicrobianas del propóleo pueden ser atribuidas, principalmente, a los flavonoides, como la pinocembrina, galangina, pinobanskina y al éter bencil del éster fenetil de ácido caféico (CAPE), el cual es un componente activo del propóleo que ejerce gran variedad de

cambios biológicos en diversos sistemas, como las respuestas inmunomoduladoras, antiinflamatorias, y antimutagénicas (Lefkovičs *et al.*, 1997). El uso de los flavonoides contra infecciones bacterianas o fúngicas tiene como objetivos matar las células de los microorganismos o dificultar los efectos de difusión de las toxinas bacterianas (Lopes, 1998)

Fernandes *et al.* (2001) basados en los resultados obtenidos concluyen que, en general, las bacterias Gram positivas son más susceptibles a los EEP que las Gram negativas. Farnesi (2007) refiere que el propóleo de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier presentó mayor actividad antimicrobiana contra el *Micrococcus luteus* que contra *S. aureus*. Sin embargo, la inhibición fue menor que la de *A. mellifera*. Chaillou *et al.* (2004) estudiaron propóleos argentinos y encontraron que el 50% de las muestras inhibieron en más de 12 mm cepas de *S. aureus*, concluyendo que el diámetro del halo de inhibición depende del contenido de flavonoides de los EEP utilizados.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el contenido de flavonoides y evaluar la actividad antimicrobiana y actividad antioxidante del propóleo de abejas sin aguijón *Melipona quadrifasciata*, *M. compressipes*, *T. angustula* y *Nannotrigona* sp. provenientes de Brasil y Venezuela contra cepas estandarizadas de *M. luteus* y *S. aureus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado desde noviembre de 2003 hasta abril de 2004, durante el cual se colectaron muestras de propóleos en 10 colonias de *T. angustula* y *Nannotrigona* sp., cada una, provenientes de la Estación Experimental "Jaime Henao Jaramillo" de la Universidad Central de Venezuela, Cortada del Guayabo (10°01' N y 62°15' O), municipio Guaicaipuro, estado Miranda, y las muestras de geopropóleos de tres colonias de *M. compressipes* provenientes de Calabozo (8°55' N y 67°26' O), municipio Miranda, estado Guárico, Venezuela. Las muestras de *M. compressipes* provenían de pocas colonias debido a la dificultad de poder conseguir esta especie de abeja. Las muestras de geopropóleos de *M. quadrifasciata* provenían de 10 colonias del apiario (21°11' S y 47° 13' I) del Departamento de Genética de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, estado São Paulo, Brasil.

La recolección del propóleos fue realizada una vez al mes mediante el raspado del propóleos acumulado, principalmente en la tapa, dado que la producción de estas abejas es baja, como lo indica Fabichak (2000), quien señala que para estimar la productividad de propóleos se debe realizar un paralelismo con la producción de miel (kg/año), que ha sido reportada hasta en 10 veces mayor que la de *T. angustula*, Sin embargo, algunas líneas mejoradas producen hasta un kg/año. Previo a todos los análisis se realizó un pool de las muestras por especie y por cada mes evaluado.

Las evaluaciones de calidad del propóleos de meliponinos se realizaron bajo los mismos parámetros que se evalúan los propóleos de abejas *Apis*, dado que no existen otros indicadores establecidos para estas abejas.

La preparación de los extractos etanólicos de propóleos (EEP) se realizó según la metodología descrita por Park *et al.* (1998). Se prepararon dos EEP por cada muestra mensual recolectada, los cuales tenían una concentración de 15 mg/mL. Cada muestra tenía su respectiva réplica

El contenido de flavonoides se evaluó al colocar en dos balones volumétricos de 25 mL 0,3 y 0,4 mL del EEP a cada uno, con sus respectivas réplicas, a los cuales se les adiciono 15 mL de metanol PA, 0,5 mL de AlCl_3 5% p/v y se completo el volumen con metanol. Posteriormente, se agitó y se resguardó de la luz durante 30 min. Después se transfirieron 4 mL de las muestras en una cubeta de cuarzo para la lectura de la absorbancia hecha en un espectrofotómetro a 425 nm. Una muestra de metanol PA fue usada como blanco (control). En esta prueba los flavonoides reaccionan con el cloruro de aluminio en etanol produciendo un complejo de color amarillo que posee un pico de absorción de luz a 425 nm. El límite mínimo de tolerancia en propóleos de abejas *Apis* es de 0,75% m/m.

Para la prueba de actividad antioxidante, se colocaron 2 mL del EEP en un beaker de 100 mL, se adicionaron 48 mL de agua destilada y se agitó con un bastón de vidrio. Inmediatamente, se colocaron 0,5 mL do extracto diluido + 1,5 mL de agua destilada + 1 mL. H_2SO_4 20% en un tubo de ensayo de 15 mL y posteriormente se enfrió a una temperatura de 18 a 20°C durante 2 min. Después se agregaron 50 μL de KMnO_4 0,1N. El tiempo que tardaron las muestras en cambiar de color rosado a transparente fue medido

con un cronómetro. El límite de tolerancia máximo permitido es de 22 seg, lo cual indica que el propóleos evaluado es de calidad. Esta prueba se realizó con su respectiva réplica.

Se realizaron antibiogramas con líneas estandarizadas American Type Culture Collection (ATCC) de *M. aureus* ATCC 25.923 y *M. luteus* ATCC 9.341 como bacterias de prueba. Se prepararon dos placas de petri, con sus respectivas réplicas, con agar Mueller-Hinton con suspensión de 10^8 a 10^9 de *M. luteus* ATCC 9.341 y *S. aureus* ATCC 25.923, sometidas a la acción de los diferentes EEP, a través de discos de papel (uno por cada muestra de propóleos) de 5 mm de diámetro. Como control fue usado un disco impregnado de alcohol etílico al 70%. Después las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 h. Posteriormente, fueron leídos los halos de inhibición de crecimiento en mm, usando una regla milimetrada. La presencia de halo de inhibición indicaba que las bacterias evaluadas eran sensibles y la ausencia de halo indicaba que rea resistente al EEP evaluado.

Para el análisis de los datos se empleó un modelo lineal aditivo con efectos fijos, el cual cumplió con los supuestos de normalidad del ANAVAR. Posteriormente, se aplicó la prueba de media de la mínima diferencia significativa honesta de Tukey a un nivel de $P < 0,05$ por medio del programa Infostat (2002). El modelo usado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Mes}_i + \text{Abejas}_j + \text{Mes} \times \text{Abejas}_{ij} + E_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk} = Valor estimado de la característica estudiada

μ = Media de las muestras

Mes_i = Efecto fijo del i-ésimo mes

Abejas_j = Efecto fijo del j-ésimas especies de abejas

$\text{Mes} \times \text{Abejas}_{ij}$ = Efecto del i-ésimo mes en la j-ésima especie de abejas

E_{ijk} = Efecto aleatorio del error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los contenidos de flavonoides de los propóleos evaluados evidenciaron diferencias significativas ($P=0,0002$) en cuanto a la influencia estacional de los EEP. Por otro lado, se comprobó una variación altamente significativa ($P < 0,0001$) entre los EEP de las diferentes especies de abejas ensayados, lo

que demuestra la influencia del factor especie de abeja en el tenor de flavonoides. Los resultados previos se conjugaron en una interacción mes*abeja que resultó también altamente significativa ($P=0,0143$).

En la Figura 1 se presentan los contenidos de flavonoides de los propóleos evaluados, donde se observa que los valores variaron de 0,20 a 0,32%, con promedios de 0,25 y 0,28% para los meses de marzo y abril, respectivamente, y 0,26% para el resto de los meses. Aunque la diferencia entre los meses fue baja, la diferencia fue notoria y pudiera deberse a la oferta de resina en el momento de ser colectada y transformada en propóleos.

En cuanto a los contenidos de flavonoides por especie, también se observaron diferencias significativas en este parámetro entre especie de abeja evaluada, siendo la abeja española (*T. angustula*) la que mostró el mayor contenido promedio de 0,30% de flavonoides y la abeja guanota (*M. compressipes*) la que presentó el menor promedio con 0,23%, junto con la mandaçaia (*M. quadrifasciata*) con 0,24% de promedio de flavonoides. Parte de la diferencia de los tenores de flavonoides entre ambas especies pudiera

deberse a la vegetación presente en las adyacencias de las colonias que aportaron las muestras, dado que existen evidencias de que la composición química del propóleos varía en función de la flora disponible por la colmena (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995). Estos valores promedios de flavonoides obtenidos son bajos, cuando se comparan con los producidos por abejas *Apis*, propóleos que ha sido ampliamente estudiado, con valores reportados desde 0,55 hasta 2,89% en condiciones tropicales (Manrique, 2001). En un estudio realizado por Manrique (2006) con propóleos de *Apis*, colectado en la misma zona donde se colectó el propóleos de las abejas española y conguita (*Nannotrigona sp.*), se obtuvieron contenidos de flavonoides que variaron entre 0,55 y 0,97%.

Similarmente, Woisky (1996) y Manrique (2001) reportaron contenidos de flavonoides de 0,83 y 0,73% de muestras de propóleos de *Apis*, provenientes de Ribeirão Preto, Brasil, región de donde se obtuvo el propóleos de la abeja mandaçaia usada en el presente trabajo. Sin embargo, los bajos valores de flavonoides del propóleos obtenidos por los Meliponinos del presente trabajo concuerdan con los datos de Tomás-Barberán *et al.* (1993) quienes verificaron bajos tenores

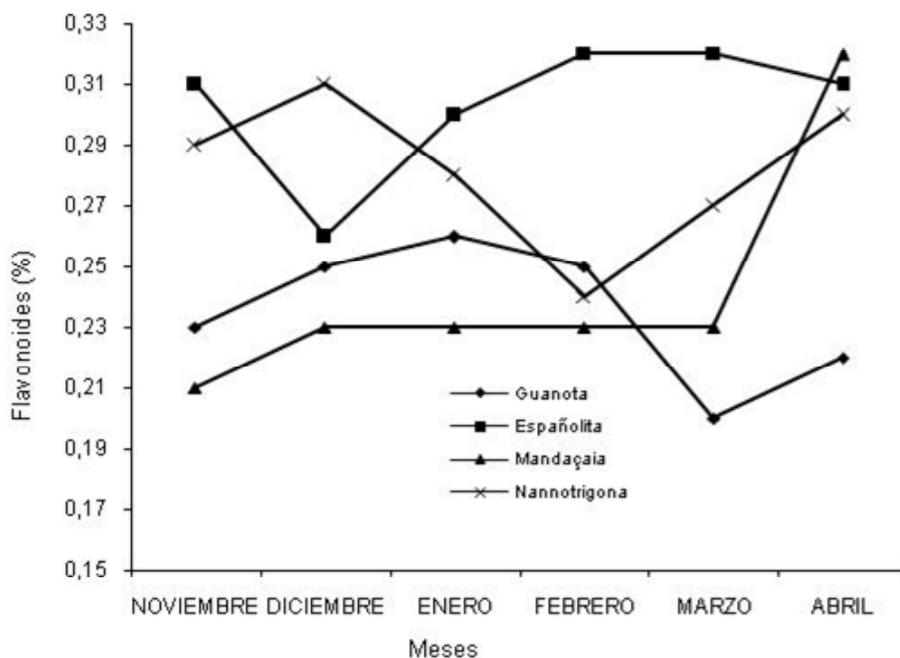


Figura 1. Porcentaje promedio de flavonoides de los EEP, de las muestras de propóleos de mandaçaia (*M. quadrifasciata*), guanota (*M. compressipes*), española (*T. angustula*) y conguita (*Nannotrigona sp.*) de Brasil y Venezuela. De noviembre de 2003 hasta abril de 2004.

de flavonoides y valores trazas en otras muestras de propóleos de Venezuela, colectadas por *A. mellifera* y por *M. favosa*, respectivamente, y con lo sugerido por González y Bernal (1997) y Bracho *et al.* (1996) quienes afirman que los propóleos tropicales son bajos en flavonoides.

En la Figura 2 se muestra la actividad antioxidante de los EEP de los meliponinos en estudio. Los resultados obtenidos no muestran diferencias estadísticas entre los diferentes meses, con lo cual no hubo influencia estacional. Por otro lado, hubo diferencias estadísticas entre especies, resaltando los EEP de *M. quadrifasciata*, con valores sumamente bajos (2,50 seg) para los meses de enero y marzo. Similarmente, se ilustra la elevada capacidad antioxidante de los EEP analizados, dado que todas las muestras analizadas están muy por debajo del límite máximo de 22 seg, con 6,50 seg como el valor más elevado en los EEP de noviembre y marzo de las abejas *M. compressipes*, con buena actividad biológica, a pesar de tener bajo contenido de flavonoides. Esta

tendencia es corroborada con el análisis de correlación de Pearson realizado en todas las muestras de EEP, donde se mostró que no existe correlación entre el contenido de flavonoides y la actividad antioxidante. Resultados contrarios a los obtenidos por Manrique (2001) quien encontró que la actividad antioxidante de los EEP de abejas *Apis* estaban influenciados por los valores de flavonoides, con reacciones de hasta 5 seg cuando el valor de los flavonoides alcanzaba 2,32%. Esta tendencia concuerda con lo apuntado por Park y Alencar (2000), quienes encontraron que la actividad antioxidante era más rápida cuando los valores de flavonoides eran más elevados. Sin embargo, Salamanca *et al.* (2007) refieren que estas variaciones pudieran asociarse con el tipo de compuestos presentes en los extractos analizados, que no necesariamente contienen flavonoides. Por otro lado, Manrique y Santana (2004) destacan que la propiedad antioxidante del propóleos varía según la concentración y la naturaleza del producto a ser conservado. La diferencia significativa observada en

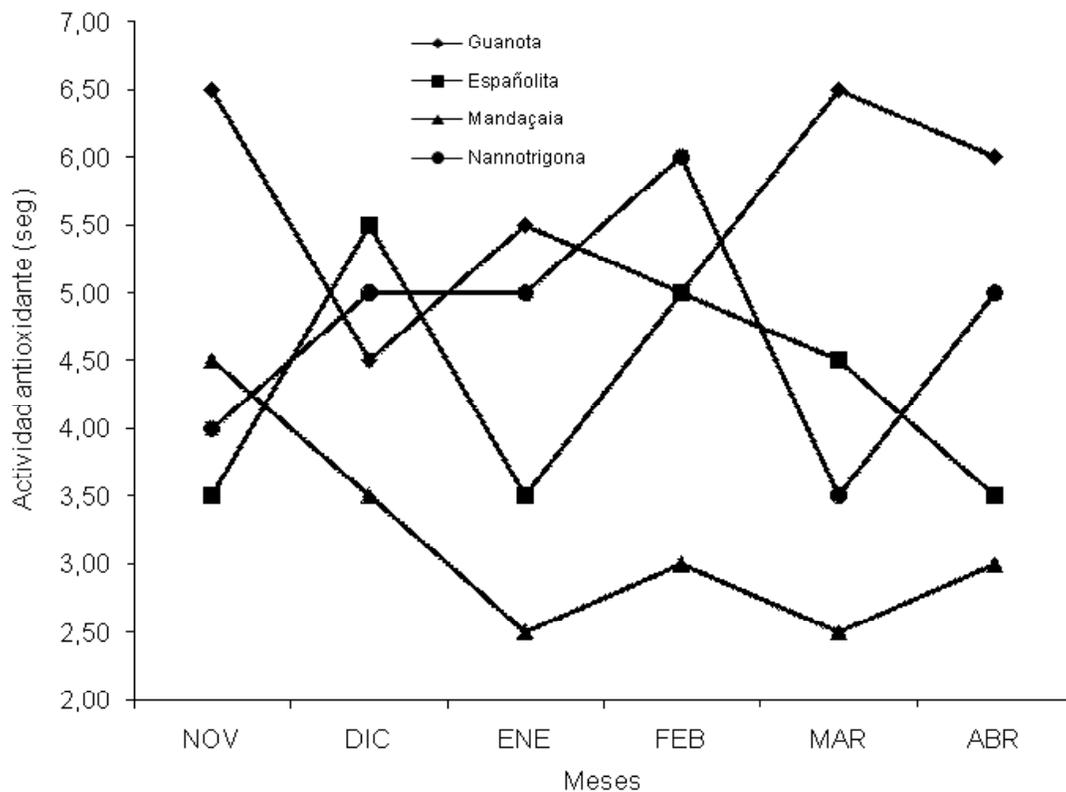


Figura 2. Actividad antioxidante de los EEP de las muestras de propóleos de mandaçaia (*M. quadrifasciata*), guanota (*M. compressipes*), españolita (*T. angustula*) y conguita (*Nannotrigona* sp.) de Brasil y Venezuela. De noviembre de 2003 hasta abril de 2004.

la actividad antioxidante, pudiera deberse al tipo de resina que colecta cada especie, dado que se muestreó en tres zonas geográficas diferentes, diferentes hábitats, encontrándose que la actividad antioxidante de los EEP de las *Nannotrigona* sp. *T. angustula*, que provenían del mismo meliponario, mostraron el mismo comportamiento.

En el Cuadro 1 son presentados los datos sobre la actividad antimicrobiana de los EEP de las muestras de propóleos de las abejas sin aguijón, donde hubo influencia estacional al mostrar diferencias significativas, según la Prueba de Tukey. Casi todos los EEP propóleos inhibieron fuertemente el crecimiento microbiano, tanto del *M. luteus* como del *S. aureus*, a excepción de los EEP de noviembre que aun cuando inhibieron el crecimiento bacteriano, sin embargo, éste no fue tan fuerte. Los EEP obtenidos de muestras colectadas en el mes de enero presentaron mayor actividad contra el *M. luteus*, con halos de inhibición de 26,5 mm. Similarmente, el *S. aureus*, fue más sensible a los EEP de enero. Estos valores son superiores a los reportados por Konishi *et al.* (2004) con *S. aureus* y *Streptococcus mutans* Clarke, 1924, con halos de inhibición entre 7,9 y 12,0 mm. Por otro lado, los mayores diámetros de inhibición fueron obtenidos contra *M. luteus*, contrario con los resultados reportados por Moura *et al.* (1999) y Manrique (2006).

Los resultados de todos los EEP evaluados muestran que a actividad antimicrobiana del propóleos

es variable dependiendo del microorganismo en estudio y de la región de colecta del mismo, tal como lo sugieren Koo *et al.* (1999) y Manrique (2006) quien evaluó propóleos de la misma región colectados por abejas *Apis*, concordando con los resultados de Sforcin *et al.* (1998) quienes no encontraron efecto estacional al evaluar propóleos colectado en cuatro estaciones, los cuales inhibieron el crecimiento de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. La diferencias significativas en la actividad antimicrobiana del propóleos colectado en diferentes meses pudiera deberse a la composición misma de las resinas que lo forman, dado que las abejas extraen resinas, principalmente, de los puntos de crecimiento de las plantas, visto que en regiones tropicales el crecimiento de las plantas se manifiesta durante todo el año, bien como en heridas en las plantas y estructuras resiníferas vegetales (Roubik, 1989).

Concordando con lo antes señalado, Bankova *et al.* (1998a) observaron, que dependiendo de la estación del año, existe variación en los componentes químicos del propóleos, como los diterpenos, que son biológicamente muy activos y son detectados en el propóleos producido en el verano y otoño, pero que no se producen en las otras épocas del año. El origen vegetal de los propóleos en las abejas sin aguijón es distinto al de las *A. mellifera* en un mismo hábitat, siendo que ha variación en la composición química del propóleos entre las diferentes especies de los meliponinos (Bankova y Popova, 2007).

Cuadro 1, Variación estacional de la actividad antimicrobiana de los EEP de propóleos colectados por *M. quadrifasciata*, *M. compressipes*, *T. angustula* y *Nannotrigona* sp. en Brasil y Venezuela, contra *M. luteus* ATCC 9.341 y *S. aureus* ATCC 25.923.

Mes	Halo de inhibición	
	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	----- mm -----	
Noviembre	17,9e†	16,8e
Diciembre	24,5bc	22,0ab
Enero	26,5a	24,0a
Febrero	25,4b	23,6ab
Marzo	23,5c	20,5cd
Abril	21,9d	19,4d

† Valores con letras distintas en la columna son diferentes estadísticamente (P<0,05).

En general, la actividad antimicrobiana de los propóleos es atribuida al contenido de flavonoides (flavonas y flavononas), tal como lo refieren diversos autores, como Lefkovits *et al.* (1997), Chaillou *et al.* (2004) y Principal (2005). Sin embargo, los propóleos estudiados en el presente ensayo mostraron valores muy bajos, variando de 0,20% a 0,32%, lo cual pudiera indicar que existen otras variables que influyan sobre la actividad antibacteriana.

Las actividades antimicrobianas de los EEP de las diferentes especies de meliponinos son mostrados en el Cuadro 2, donde se observó que hubo diferencia significativa. Todos los EEP inhibieron la actividad de las bacterias estudiadas; sin embargo, de acuerdo al análisis estadístico, los EEP de *T. angustula* y *Nannotrigona* sp. mostraron mayor efectividad inhibitoria contra las bacterias evaluadas que los de *M. quadrifasciata* y *M. compressipes*. Estos resultados concuerdan con los de Velikova *et al.* (2000a) quienes obtuvieron resultados en los cuales los EEP de propóleos de *M. quadrifasciata* mostraron moderada (16 mm) actividad antimicrobiana contra *S. aureus* y difieren levemente de los obtenidos por Fernandes *et al.* (2001), quienes obtuvieron una actividad antimicrobiana de los EEP en el siguiente orden: *M. quadrifasciata*, *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836 y *T. angustula* contra el *S. aureus*. Mientras que cuando evaluaron los EEP contra *Escherichia coli*, T. Escherich, 1885 obtuvieron que los de *T. angustula* fueron superiores que los de *N. testaceicornis*. En otro trabajo realizado por Velikova *et al.* (2000b) encontraron que el extracto de propóleos de *T. angustula* mostró elevada actividad contra *S.*

aureus, *E. coli* y *Candida albicans* Berkhout, 1923. Similarmente, Miorin *et al.* (2003) reportan que los propóleos de *T. angustula* poseen gran actividad antibacteriana contra el *S. aureus*. No obstante, estos resultados son contrarios a los reportados por Farnesi (2007) quien indica que los EEP de *T. angustula*, *N. testaceicornis*, *Plebeia droryana* Friese, 1900, *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836 y *Friesiomellita varia* Lepeletier, 1836, no mostraron actividad antifúngica ni antibacteriana, al ser evaluados contra *M. luteus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Aspergillus nidulans* Winter, 1884, *Pseudomonas aeruginosa* Schröter, 1872 y *Trichophyton rubrum* Malmsten, 1845.

Esta actividad antimicrobiana pudiera deberse a la concentración de ácidos aromáticos (caféico y p-coumarico) presentes en los propóleos, los cuales son conocidos por sus actividades antimicrobianas y anti-inflamatoria, tal como lo reseñan Krol *et al.* (1996). Aunque no se analizaron químicamente los EEP, la composición del propóleos puede variar entre muestras y pudiera influir sobre la actividad antibacteriana, tal como es sugerido por Bankova *et al.* (1998a), concordando con Bankova *et al.* (1998b), quienes reportaron diferencias en la composición química de propóleos de tres especies de abejas sin aguijón en Brasil.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que los EEP provenientes de muestras de meliponinos, poseen fuerte actividad antimicrobiana contra las líneas estandarizadas de *Staphylococcus aureus* y

Cuadro 2. Actividad antimicrobiana de los EEP de propóleos colectados por *M. quadrifasciata*, *M. compressipes*, *T. angustula* y *Nannotrigona* sp. en Brasil y Venezuela, contra *M. luteus* ATCC 9.341 y *S. aureus* ATCC 25.923.

Especie de abeja	Halo de inhibición	
	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	----- mm -----	
<i>Melipona quadrifasciata</i>	21,8c†	19,0b
<i>Melipona compressipes</i>	21,1b	19,8b
<i>Tetragonisca compressipes</i>	24,1b	19,8a
<i>Nannotrigona</i> sp.	26,1a	23,5a

† Valores con letras distintas en la columna son diferentes estadísticamente (P<0,05).

Micrococcus luteus. Estos resultados refuerzan el potencial del extracto de propóleos como tratamientos de algunas patologías.

No existe correlación entre la actividad antioxidante y la concentración de flavonoides en los EEP de los meliponinos estudiados.

La actividad antimicrobiana de los propóleos evaluados mostró influencia estacional, posiblemente ligado a las diferentes plantas/año o debido a las diferentes condiciones fisiológicas de las mismas.

La actividad biológica (antimicrobiana y antioxidante) de los EEP de las abejas sin aguijón estudiados, indica que esta es parte de la defensa de las abejas contra algunos microorganismos patógenos, que naturalmente infestan las colonias en los climas tropicales.

Los propóleos de los meliponinos evaluados son muy bajos en flavonoides, sin embargo, presentan elevada actividad biológica, tan igual y hasta superior a los propóleos de abejas *Apis* con mayor contenido de flavonoides, no a presentando correlacionados con los estés, indicándose fuertes acciones biológicas de otros componentes de los propóleos de estas abejas.

LITERATURA CITADA

- Bankova V.S. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid Based Complement Alternat. Med.*, 2: 29-32.
- Bankova V., C. Boudorova, G. Krasteva, S. Popov, J. Sforcin y S. Funari. 1998a. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. *Apidologie*, 29: 361-367.
- Bankova V., R. Christov, M.C. Marcucci y S. Popov. 1998b. Constituents of Brazilian geopropolis. *Z. Naturforsch. Sect. C Biosci.*, 53: 402-406.
- Bankova V. y M. Popova. 2007. Propolis of stingless bees: A promising source of biologically active compounds. *Pharmacog. Rev.*, 1(1): 88-92.
- Biesmeijer J. 1997. Abejas sin Aguijón. Elinkwijk BV Utrecht, The Netherlands.
- Bracho J., A. Rosado y J. Pino. 1996. Estudio de la composición química del propóleos cubano mediante cromatografía de gases. Espectrofotometría de masas. IV Simposio de Propóleos y III de Apiterapia, La Habana, Cuba.
- Chaillou L.L., H.A. Herrera y J.F. Maidana. 2004. Estudios de propóleos de Santiago del Estero, Argentina. *Ciê. Tecn. Alim.*, 24(1): 11-15.
- Dos Santos Pereira A., B. Bicalho y F.R. de Aquino Neto. 2003. Comparison of propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula*. *Apidologiem* 34: 291-298.
- Fabichak I. 2000. *Abelhas Indígenas sem Ferrão: Jataí*. Ed. Nobel, São Paulo, Brasil.
- Farnesi A.P. 2007. Efeitos da própolis das abelhas africanizadas e meliponíneas em microorganismos. Dissertação Mestrado. Fac. Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Brasil.
- Fernandes Jr A., L. Leomil, A.H. Fernandes y J.M. Sforcin. 2001. The antibacterial activity of propolis produced by *Apis mellifera* L. and Brazilian stingless bees. *J. Venom. Ani. Toxins*, 7(2): 173-182.
- Ghisalberti E.L. 1979. Propolis: A review. *Bee World*, 60 (1): 59-84.
- Gonzalez A.R y R. Bernal. 1997. Propóleos: Un camino hacia la salud. Ed. Pablo de la Torriente, La Habana, Cuba.
- Heard T. 1999. The role of stingless bees in crop pollination. *Ann. Rev. Entom.*, 44: 183-206.
- Infostat. 2002. Software estadístico Manual del usuario. Versión 1. Universidad de Córdoba, Buenos Aires, Argentina.
- Kerr W. E., V. Nascimento y G. A. Carvalho. 1994. Há salvação para os meliponíneos? *En Zucchi R, P. Drumond, P.G. Fernandes-da-Silva y S.C. Augusto*. (Eds) *Anais 1º Encontro sobre Abelhas de Ribeirão Preto*. Universidade de São Paulo, FFCLRP, Ribeirão Preto. p. 60-64.
- Konishi S., A.C. Sawaya, A. Custódio, I.B. Cunha da S. y M.T. Shimizu. 2004. Análise da influência de agentes solubilizantes na atividade antimicrobiana de extratos de propolis e de uma formulação de spray hidroalcoólico. *Rev. Mensagem Doce*, 75: 5-8.

- Koo H., P. Rosalen, J. Cury, Y. Park y M. Ikegaki. 1999. Avaliação do potencial anti-cárie e anti-placa da própolis de *Apis mellifera* da região sudeste e sul do Brasil. I. Atividade antimicrobiana *in vitro* sobre patógenos bucais. Rev. Universidade de Franca, Edição Especial, I Simpósio Brasileiro sobre Própolis e Apiterápicos, 7(7): 48-49.
- Krol W., S. Scheller, Z. Czuba, T. Matsuno, G. Zydowicz, J. Shani y M. Mos. 1996. Inhibition of neutrophils' chemiluminescence by ethanol extract of propolis (EEP) and its phenolic components. J. Ethnopharm., 55: 19-25.
- Kujumgiev A., I. Tsvetkova, Y. Serkedjieva, V. Bankova, R. Christov y S. Popov. 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. J. Ethnopharm., 64: 235-40.
- Lefkovits I., Z.Z. Su y P.B. Fischer. 1997. Caffeic acid phenethyl ester profoundly modifies protein synthesis profile in type 5 adenovirus-transformed cloned rat embryo fibroblasts cells. Int. J. Oncology, 11(1): 59-67.
- Lopes N.P. 1998. Flavonoids and lignans from *Virola surinamensis* twigs and their *in vitro* activity against *Trypanosoma cruzi*. Plant Med., 64: 667-668.
- Manrique A.J. 2001. Seleção de abelhas africanizadas para a melhoria na produção de própolis. Tese Doutorado. Fac. Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil.
- Manrique A.J. 2006. Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela. Efecto de la variación estacional. Zootecnia Trop., 24(1): 43-53.
- Manrique A.J. y W.C. Santana. 2004. Antibacterial and antioxidant activities of propolis of native (Brazil and Venezuela) stingless bees (*Melipona quadrifasciata* Lep., *Tetragonisca angustula* and *Nannotrigona* sp.). Proc. 8^{vo} IBRA Int. Conference on Tropical Bees and VI Encontro sobre Abelhas. Ribeirão Preto, Brasil, CD-ROM.
- Marcucci M.C. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, 26: 83-99.
- Michener C.D. 2000. The Bees of the World. Baltimore, The Johns Hopkins University Press, Boston.
- Miorin P. L., N. C. Levy Jr, A. R. Custodio, W. A. Bretz y M.C. Marcucci. 2003. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. J. App. Microbio., 95: 913-920.
- Moura F., N. Ikegaki, S. Alentar, H. Sato e Y. Park. 1999. Classificação da própolis da região sudeste do Brasil. Rev. Universidade de Franca, Edição Especial, I Simpósio Brasileiro sobre Própolis e Apiterápicos, 7 (7): 43-44.
- Nogueira-Neto P. 1962. Novos estudos sobre Meliponíneos. Chácaras e Quintais, 106(2): 324.
- Nogueira-Neto P. 1997. Vida e Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão. Ed. Nogueirapis, São Paulo, Brasil.
- Oliveira M. y J. Cunha. 2005. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica. Rev. Acta Amazô., 35(3): 389-394.
- Park Y.K. y M. Alencar de S. 2000. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. Rev. Mensagem Doce, 58: 2-5.
- Park Y.K., M. Ikegaki y J.A. da Silva Abreu. 1998. Estudo da preparação dos extratos de propolis e suas aplicações. Cien. Tecn. Alim., 18(3): 313-318.
- Principal J. 2005. El propóleo: Perspectivas terapéuticas en la medicina humana y veterinaria. Memorias I Congreso Internacional de Apicultores de los Andes y III Convención de Apicultores, San Cristóbal, Táchira, Venezuela.
- Ramallo M. 2004. Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. Acta Bot. Bras., 18(1): 37-47.

- Roubik D.W. 1989. Ecology and Natural History of Tropical Bees. Cambridge University Press, New York.
- Salamanca G., I. Correa-Carvajal y J. Principal. 2007. Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. *Zootecnia Trop.*, 25(2): 95-102.
- Sforcin J.M., A. Fernández, C.A. Lopes y S.R. Funari. 1998. Efeito da sazonalidade sobre a atividade antifúngica da própolis. *Anais XII Congresso Brasileiro de Apicultura*, Salvador, Bahia, Brasil.
- Silveira F.A., G.A.R. Melo y E.A.B. Almeida. 2002. Abelhas brasileiras: Sistemática e identificação. Fundação Araucária, Belo Horizonte, Brasil.
- Tomás-Barberán F.A, C. García-Viguera, P. Vit-Olivier, F. Ferreres y F. Tomás-Llorente. 1993. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela. *Phytochem.*, 34: 191-196.
- Velikova M., V. Bankova, M.C. Marcucci, L. Tsvetkova y A. Kujumgiev. 2000. Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian meliponinae. *Zeitschrift für Naturforschung*, 55C: 785–789.
- Velikova M., V. Bankova, L. Tsvetkova, A. Kujumgiev y M.C. Marcucci. 2000. Antibacterial entkaurene from Brazilian propolis of native stingless bees. *Fitoterapia*, 71: 693-696.
- Velthuis H. H. W. 1997. *Biologia das abelhas sem ferrão*. Universidade de Utrecht, Utrecht, Holanda, Departamento de Etologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Williams I., S. Corbet y J. Osborne. 1991. Beekeeping, wild bees and pollination in the European Community. *Bee World*, 72 (4): 170-180.
- Woisky R 1996. Métodos de controle químico de amostras de própolis. *Dissertação Mestrado*. Fac. Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.