

ULYSSES COSTA FREIRE

**ORIGEM DA PRÓPOLIS VERDE E PRETA PRODUZIDA  
EM MINAS GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2000

ULYSSES COSTA FREIRE

**ORIGEM DA PRÓPOLIS VERDE E PRETA PRODUZIDA  
EM MINAS GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de setembro de 2000.

---

Prof<sup>a</sup> Renata Maria Strozi A. Meira  
(Conselheira)

---

Prof<sup>a</sup> Tânia Toledo de Oliveira  
(Conselheira)

---

Prof. José Eurico de Faria

---

Prof. Marcelo Coutinho Picanço

---

Prof. Dejair Message  
(Orientador)

*À Deus, pela vida e por suas bênçãos.*

*Aos meus pais, Jecydo e Esther, pelo amor e  
pela dedicação à mim dispensados.*

*Ao meu irmão, Adalberto, pela amizade e pelo apoio.*

## **AGRADECIMENTO**

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização do Curso.

Ao orientador, apicultor e amigo Professor Dejour Message, pela acolhida, pela orientação do trabalho, pelos ensinamentos transmitidos, pelo incentivo e pela amizade, tantas vezes e de tantas formas demonstrada.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À pesquisadora Dr<sup>a</sup> Esther Margarida Bastos, pelos valiosos ensinamentos, pela amizade e pela dedicação.

Às professoras conselheiras, Renata Maria Strozi A. Meira e Tânia Toledo de Oliveira, pelos valiosos ensinamentos, pela amizade, pela dedicação e pelo incentivo.

Aos professores do curso de Entomologia, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos colaboradores, apicultores Adomar Jesus de Carvalho e Hilo José de Andradre, pelo apoio, pelo auxílio e pela amizade.

À secretária, D. Paula, pela presteza, pela competência e pela amizade.

Aos funcionários do Apiário, pelo auxílio e pela amizade.

Aos meus colegas de Curso, pela amizade e pela convivência nos muitos momentos, alegres e tristes, que passamos juntos.

## **BIOGRAFIA**

ULYSSES COSTA FREIRE, filho de Jecydo Freire e Esther Costa Freire, nasceu em Belo Horizonte, Minas Gerais em 16 de dezembro de 1958.

Formou-se em graduação no curso de Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, no ano de 1990.

Em outubro de 1998, iniciou o Programa de Pós-Graduação Entomologia, em nível de Mestrado, pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, defendendo tese em 29 de setembro de 2000.

## CONTEÚDO

	<b>Página</b>
RESUMO .....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Própolis – conceito.....	4
2.2. Própolis – composição química .....	6
2.3. Própolis – propriedades .....	8
2.3.1. Atividade biológica da própolis.....	8
2.4. Origem botânica da própolis .....	11
2.5. Estruturas secretoras em Asteraceae .....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1. Locais dos experimentos .....	15
3.2. Obtenção do material biológico.....	15
3.3. Método para indução da produção de própolis .....	17
3.4. Coleta e acondicionamento das amostras de própolis.....	17
3.5. Análises .....	17
3.5.1. Análise macroscópica da própolis.....	18

	<b>Página</b>
3.5.2. Análises microscópicas da própolis .....	18
3.5.2.1. Determinação da origem botânica da própolis .....	18
3.5.2.2. Anatomia foliar das espécies vegetais presentes no raio de atividade das abelhas.....	19
4. RESULTADOS.....	21
4.1. Avaliação da influência do local de produção e da origem das abelhas na cor da própolis .....	21
4.2. Avaliação da origem botânica da própolis produzida na região de Itapecerica-MG (própolis verde) e Virginópolis-MG (própolis preta) .....	25
4.2.1. Análise das estruturas vegetais encontradas no sedimen- to insolúvel da própolis.....	25
5. DISCUSSÃO.....	36
5.1. Origem da cor verde e preta da própolis produzida respecti- vamente em Itapecerica-MG e Virginópolis-MG.....	36
5.2. Evidência da origem da própolis pela análise de estruturas vegetais presentes no resíduo insolúvel.....	41
5.3. Relação inseto-planta na atratividade para coleta e uso de própolis.....	43
6. CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

## RESUMO

FREIRE, Ulysses Costa, M.S., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2000. **Origem da própolis verde e preta produzidas no Estado de Minas Gerais.** Orientador: Dejair Message. Conselheiros: Renata Maria Strozi Alves Meira e Tânia Toledo de Oliveira.

O presente trabalho procurou avaliar a origem da diferença da cor e outras características organolépticas (maleabilidade e aroma), de dois tipos de própolis (verde e preta), produzidas por abelhas *Apis mellifera* L., africanizadas, em duas diferentes localidades, Itapeçerica e Virginópolis, no Estado de Minas Gerais. Para isso, foram avaliadas a influência do efeito de local e a possibilidade da interferência da abelha nas características organolépticas da própolis. A estratégia adotada foi a introdução de colônias originárias de uma região, com produção de um tipo característico de própolis, em outra região, com produção de outro tipo característico de própolis, ao mesmo tempo em que, colônias-irmãs correspondentes àquelas permaneceram na sua própria região de origem. Esta permuta foi feita, simultaneamente, para os dois locais e para as duas origens geográficas das abelhas utilizadas no experimento. Foram avaliados a cor, o aroma e o aspecto da própolis, produzida por cada uma das colônias, na sua região de origem e na região na qual foi introduzida. Numa outra fase do trabalho, avaliou-se a origem botânica da própolis, pela identificação das espécies

vegetais presentes nas amostras, por meio do estudo morfo-anatômico de suas estruturas secretoras de resinas. Os resultados obtidos neste trabalho permitiram concluir que: a cor e as características organolépticas da própolis dependem da espécie vegetal que se constitui em sua origem botânica. A presença de *Baccharis dracunculifolia* L. no sedimento sólido, obtido das amostras de própolis, está fortemente relacionada com a cor verde na própolis. Existe relação entre a própolis de cor preta e a presença de *Vernonia rubriramea* no sedimento da amostra. Existem linhagens de abelhas que poderiam interferir na cor da própolis produzida, por apresentarem preferência por uma determinada espécie vegetal no forrageamento, em detrimento de outra espécie, mesmo que esta segunda ocorra em maior abundância. No experimento, uma linhagem de abelhas apresentou preferência por *B. dracunculifolia*, o que sugere que haja possibilidade de se realizar melhoramento genético nas abelhas, para se obter produção de tipos diferentes de própolis em uma mesma região.

## ABSTRACT

FREIRE, Ulysses Costa, M.S., Universidade Federal de Viçosa, September 2000. **Origin of the green and black propolis produced in the State of Minas Gerais.** Adviser: Dejour Message. Committee members: Renata Maria Strozi Alves Meira and Tânia Toledo of Oliveira.

The present study aimed to evaluate the origin of the differences in color and other organoleptic characteristic (malleability and aroma) of two propolis types (green and black) produced by the Africanized bees *Apis mellifera* L. in two different places, Itapeçerica and Virginópolis counties, State of Minas Gerais. So, the influence of the place effect and the possibility of the bee interference into propolis organoleptic characteristics were evaluated.. The adopted strategy was to introduce colonies originating from a region with production of a characteristic propolis type into another region with production of another characteristic propolis type at the same time when the sister-colonies corresponding to those remaining in their own origin region. This exchange was simultaneously performed for both places and both geographical origins of the bees used in the experiment. The color, the aroma and the aspect of the propolis produced by each colony in its origin area and in the area where it was introduced. In another phase of the work, the propolis botanical origin was evaluated for identification of the vegetable species present in samples, through the morphoanatomical study of their

resin-secretory structures. The results obtained from this study allowed to conclude that the color and the organoleptic characteristics of the propolis depend on the vegetable species that is constituted in its botanical origin. The presence of *Baccharis dracunculifolia* L. in the solid sediment obtained from propolis samples is highly related with the green color in propolis. There is a relationship between the black-colored propolis and the presence of *Vernonia rubriramea* in the sample sediment. There are bee strain that could interfere into color of the produced propolis for presenting a preference to a certain vegetable species over foraging in detriment of another species, even when this second one occurs at larger abundance. In the experiment, one bee strain presented a preference for *B. dracunculifolia* so suggesting that there is a possibility for genetic improvement of the bees in order to obtain the production of different types of propolis in a same area.

## 1. INTRODUÇÃO

Própolis é o nome genérico dado a uma substância resinosa, coletada e manipulada pelas abelhas de mel, a partir de algumas fontes vegetais. Secreções resinosas de gemas, ápices vegetativos, cascas de árvores e de arbustos constituem a principal matéria prima para a sua elaboração (OLIVEIRA e BASTOS, 1999). A própolis é considerada como um poderoso produto natural, sendo sua composição química considerada muito complexa, com propriedades terapêuticas e farmacológicas interessantes (MARCUCCI, 1995), fato este conhecido pelo homem desde as épocas remotas.

A própolis brasileira tem despertado grande interesse no mercado internacional, e é hoje o produto apícola que mais se destaca neste mercado. Segundo dados da Federação das Associações de Apicultores de Minas Gerais (FAMIG), no ano de 1996 a produção de própolis atingiu vinte e uma toneladas/ano em Minas Gerais gerando um faturamento de quatro milhões e oitenta e cinco mil reais. Estes dados, se comparados com a produção de mel no mesmo período, que foi de duas mil, duzentas e quarenta toneladas, gerando um faturamento de quatro milhões, quatrocentos e oitenta mil reais, evidenciam a importância deste produto para a apicultura mineira.

O Japão é o principal importador deste produto apícola brasileiro, e, de acordo com ABREU (1997), dados da Japan Trade Organization (JETRO)

indicam que 92% de toda a própolis *in natura* consumida no Japão é de origem brasileira.

A constituição química da própolis brasileira é bastante distinta das demais própolis do resto do mundo (MARCUCCI, 1998). Seus constituintes têm demonstrado semelhante espectro de atividades biológicas em relação àquela originária de regiões temperadas, porém é potencialmente muito mais promissora quanto às suas propriedades antitumorais e citotóxicas (MARCUCCI, 1999), conforme demonstram alguns resultados de trabalhos realizados no Japão. Pesquisadores daquele país têm demonstrado que princípios ativos encontrados em amostras de própolis brasileiras estão relacionados com os mecanismos reguladores contra diabetes (MATSUSHIGE et al., 1996); com as propriedades hepatoprotetoras (BASNET et al., 1996); com as propriedades anticancerígenas (MATSUNO et al., 1997) e atividade antioxidante. Talvez estes sejam os motivos mais fortes para esta preferência (MATSUSHIGE et al., 1995; MATSUNO et al., 1997).

A própolis pode apresentar variação na sua cor, podendo adquirir a tonalidade verde, verde amarelada, passando pelo vermelho ao marron escuro, bem como variações em várias outras de suas características. Estas variações são comumente relacionadas pelos diversos autores como sendo consequência da espécie vegetal de origem, condições climáticas (TOMÁS-BARBERÁN et al., 1993; CHENG e WONG, 1996) e variedade da abelha (KOO e PARK, 1997). Porém, não existem estudos que relacionem as características macroscópicas (cor e aparência) com a composição química e atividade biológica da própolis, não obstante à característica “cor” seja atribuída o *status* de indicador de qualidade, pelo mercado nacional e internacional. Segundo apicultores profissionais, a própolis de cor verde tem sido preferida na comercialização em relação à própolis de cor escura, para a qual não existe demanda. As características organolépticas cor, aroma e maleabilidade têm sido os principais parâmetros avaliados nas transações comerciais do produto, já que não existe, até o momento, um padrão de qualidade e identidade oficial estabelecido no Brasil.

No Estado de Minas Gerais, a produção principal é de própolis verde. No entanto, em determinadas regiões, ocorre a produção da própolis escura de aspecto pegajoso, entre outras. Em outros estados do sudeste também é

encontrada própolis verde, mas, geralmente, encontra-se própolis de coloração marrom.

Apesar de se saber que a origem vegetal influencia a composição química da própolis (GHISALBERTHI, 1979; BANKOVA et al., 1995), não se sabe se a própolis escura produzida no Estado de Minas Gerais ocorre em função das diferenças existentes na a vegetação de diferentes localidades ou se é devido às diferenças genótípicas entre as abelhas das regiões de própolis verde e escura.

Logo, é de vital importância para a apicultura mineira, que estudos sejam feitos para se avaliar os motivos da produção destes dois tipos distintos de própolis, bem como verificar as semelhanças e diferenças existentes na composição química e na atividade biológica de ambas.

O presente trabalho teve por objetivo analisar as origens da própolis verde do município de Itapeçerica-MG e da própolis escura do município de Virginópolis-MG.

Pretendeu-se também avaliar as seguintes características:

a) A influência do efeito de local sobre a expressão do genótipo das abelhas em relação ao aspecto cor da própolis, se verde ou escura, nestas duas localidades.

b) As espécies vegetais constituintes das amostras de própolis identificadas pelas suas características anatômicas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Própolis – conceito

Segundo GHISALBERTI (1979), a própolis é uma substância resinosa, gomosa e balsâmica produzida por abelhas, cujo nome provém do grego *pro* significando por ou em defesa de, e *polis*, significando cidade, ou seja, em defesa da cidade ou da colméia.

OLIVEIRA e BASTOS (1999) definem própolis como sendo uma substância resinosa processada por abelhas *Apis mellifera*, a partir de resinas vegetais, pólen, cera e pequenas concentrações de açúcares. As secreções resinosas advindas de gemas, ápices vegetativos e cascas de árvores e arbustos constituem a principal matéria prima para a sua elaboração. São poucas as informações sobre o comportamento de coleta de própolis por abelhas africanizadas. Segundo Meyer (1956 *apud* SANTOS 1996), durante a atividade de forrageamento da própolis, as abelhas coletoras utilizam as mandíbulas e o primeiro par de pernas. Depois de retirada da planta, a própolis é passada para a corbícula, onde é transportada para a colônia. Uma vez dentro da colônia, outras operárias, chamadas receptoras, se encarregam da descarga e da utilização da própolis nos locais necessários. SANTOS e MESSAGE (1997), estudando o comportamento de coleta e a manipulação da própolis em abelhas africanizadas, verificaram que, em relação às idades do pequeno percentual

de operárias envolvidas neste tipo de comportamento, o qual é aproximadamente 1% da população total da colônia (SANTOS, 1996), a idade das campeiras coletoras de própolis variou entre 41 e 63 dias, enquanto que a idade das abelhas receptoras variou de 15 a 39 dias. Observaram também que 8 a 16 operárias receptoras eram envolvidas na descarga de cada campeira coletora. Não foi observada transferência de própolis entre abelhas receptoras, embora tenha sido observada a transferência de própolis entre locais dentro da colônia.

GHISALBERTI (1979) e MARCUCCI (1995) afirmam que à própolis são acrescentadas, na colméia, secreções salivares pelas abelhas. A possibilidade de que estas secreções possam estar modificando a composição química da própolis é defendida por alguns autores que afirmam que a incorporação de secreções das glândulas hipofaríngeas, especialmente  $\beta$ -glicosidases possa estar influenciando sua composição, pois esta enzima é responsável pela hidrólise de flavonóides glicosidados em agliconas (BONVEHÍ et al., 1994a). Outros autores (KONIG, 1985), acham improvável que exista qualquer interferência da abelha na constituição da própolis.

À própolis é também acrescentada cera, na colméia, que é um de seus constituintes, embora seja uma secreção glandular das abelhas (KONIG, 1985; BURDOCK, 1988).

Sabe-se, porém, que não havendo disponibilidade de espécies vegetais fornecedoras de secreções para a elaboração da própolis no raio de ação de uma colônia, as abelhas podem coletar matéria prima substituta da própolis, tais como tintas, asfalto e óleos minerais (KONIG, 1985).

Na colméia as abelhas utilizam a própolis para reparar frestas proporcionando a manutenção das condições ambientais internas ideais para o desenvolvimento de crias, mumificar insetos invasores (GHISALBERTI, 1979) e fixação de partes móveis (MOBUS, 1972; SCHMIDT e BUCHMANN, 1992).

A própolis apresenta uma grande variação no seu aspecto físico, ou seja, na sua aparência: sua coloração vai desde o amarelo esverdeado, passando pelo verde, vermelho, até o marrom escuro. Apresenta consistência que vai de quebradiça (com textura granular) à uma substância

pegajosa. Possui aroma e sabor característicos ou não, dependendo da idade, estado de conservação e também da origem vegetal (GHISALBERTI, 1979; MARCUCCI, 1995).

Alguns solventes, como: éter, etanol, acetona, tolueno e tricloroetileno, permitem a dissolução de muitos constituintes da própolis. Como exemplo destes pode-se citar: materiais cerosos, bálsamos, óleos essenciais e derivados fenólicos. Os solventes orgânicos não solubilizam outros constituintes da própolis como: tecidos vegetais, grãos de pólen e outros (WARAKOMSKA e MACIEJEWICZ, 1992; MARCUCCI, 1996).

## **2.2. Própolis - composição química**

A composição química da própolis é muito complexa e ainda hoje não está muito clara. Cerca de 200 componentes da própolis já foram identificados em diferentes amostras de própolis. Sendo que, em uma única amostra de própolis podem ser encontrados acima de 100 componentes, incluindo ácidos graxos, ácidos fenólicos, ésteres, flavonóides (flavonas, flavanonas, flavonóis, diidroflavonóis, chalconas), terpenos,  $\beta$  esteróides e naftalenos (MARCUCI, 1999). A proporção e os tipos de substâncias encontradas em própolis de diferentes regiões de coleta é variável (MARCUCI, 1996), sendo influenciada pela sazonalidade, tanto em própolis produzidas por abelhas africanizadas, quanto por européias (BANKOVA, 1998).

Segundo SCHMIDT e BUCHMANN (1992), sua composição média básica é de 50% de resinas de plantas e bálsamos (quercetina, apigenina, ácido ferúlico, ácido cafeico, e outros), 30% de ceras, que são secreções de glândulas das abelhas, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen que é um dos constituintes introduzidos durante a sua elaboração (MARCUCI, 1995), 5% de outras matérias orgânicas, minerais e substâncias coletadas, que sofreram algum tipo de modificação na sua estrutura por alguma enzima presente na saliva das abelhas (GHISALBERTI, 1979; POPRAVKO, 1989; BONVEHÍ et al., 1994a).

A maioria dos autores concorda que as variações observadas na composição química da própolis têm sua principal fonte em fatores relacionados com a espécie vegetal de onde foram extraídas as resinas e os fragmentos de tecidos vegetais visitados pelas abelhas na coleta deste recurso (GUISALBERTI, 1979; JÉANNE, 1984; KONIG, 1985; ASIS, 1989; TOMÁS-BARBERAN, 1993; BANKOVA et al., 2000).

Entretanto, outros autores têm sugerido que a composição química não depende apenas de sua origem vegetal. Ela estaria relacionada também com fatores da abelha e com variações ambientais no local de coleta. Assim KOO e PARK (1997) encontraram evidentes diferenças entre a quantidade e a qualidade dos flavonóides extraídos de dois tipos de própolis coletadas de duas variedades diferentes de *Apis mellifera* de uma mesma região, sugerindo que a composição química da própolis é dependente também da variedade da abelha, não sendo a origem botânica o único fator que determina tais diferenças. Estes autores afirmam também que, segundo observações de apicultores profissionais, abelhas africanizadas apresentam comportamento diferenciado de coleta, no que diz respeito à escolha das espécies visitadas, se comparadas com abelhas de origem européia.

PARK et al. (1995) mostraram que existe uma variação significativa nas concentrações de flavonóides, flavonóide aglicona, galangina, crisina e quercetina de amostras originárias de várias regiões do Brasil, quando os seus extratos eram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Espectrofotômetro Ultra Violeta e, esta variação era dependente do ambiente da vegetação.

Segundo MARCUCCI (1999), o conhecimento acerca da origem botânica da própolis pode ser usado como base para uma padronização química da própolis, pois é possível se caracterizar uma planta fornecedora de resinas através de comparação de Cromatografia de Camada Fina, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência ou Cromatografia Gasosa. Poder-se-ia então, segundo a autora, obter informações qualitativas quanto à composição das amostras, no caso de se comparar as amostras com os exudatos das plantas conhecidas (MARCUCI, 1999).

### **2.3. Própolis - propriedades**

A própolis exerce um amplo espectro de atividades biológicas, o que é dependente da sua composição química, e esta varia de acordo com a região de coleta (BANSKOTA et al., 1998), pois a própolis como todos os produtos das abelhas é dependente da flora local (GHISALBERTI, 1979; TOMÁS-BARBERÁN et al., 1993), bem como das variações climáticas do sítio de coleta. Pode haver várias espécies vegetais no sítio de coleta, secretando distintos exsudatos, influenciando assim a composição química do produto, que sofre, então, grandes variações (BANKOVA et al., 1999).

Apesar de vários autores avaliarem, quantitativa e qualitativamente, a composição química da própolis, de diversas origens geográficas, e também a atividade biológica dos constituintes isolados nas várias amostras de própolis, provenientes de várias regiões do planeta (diferentes origens botânicas), não existem estudos que avaliem estas amostras em relação à sua cor e aspecto. Há necessidade de se verificar se as atividades biológicas das diferentes própolis que ocorrem no Estado de Minas Gerais (verde e escura, e também as tonalidades intermediárias de cor) apresentam tipos de constituintes diferentes e, conseqüentemente, propriedades terapêuticas diferentes, já que vários autores atribuem à origem botânica da própolis, a principal razão para as variações da cor (GHISALBERTI, 1979; TOMÁS-BARBERÁN et al., 1993; CHENG e WONG, 1996).

Segundo dados da Cooperativa Nacional de Apicultura (CONAP), existe uma preferência pela própolis de cor verde, e um desinteresse pela própolis de cor escura, por parte do mercado importador. Esta tendência também se observa no mercado interno.

#### **2.3.1. Atividade biológica da própolis**

Dentre as várias propriedades a própolis apresenta propriedades antitumoral, hepatoprotetora e antioxidante.

MATSUNO et al. (1995) demonstraram o efeito citotóxico em células cancerosas com o uso de amostras de própolis brasileira. Em 1997, estes mesmos autores mostraram que um composto isolado em extrato aquoso,

de própolis brasileira, proveniente dos estados de Santa Catarina, São Paulo e Paraná, apresentou atividade antitumoral ao inibir o desenvolvimento de três linhagens de células humanas cancerígenas, do fígado e do pulmão, cultivadas *in vitro*, exercendo um efeito citotóxico sobre as mesmas. Mostraram também que este mesmo composto foi mais ativo na eliminação dos radicais livres do que outras substâncias antioxidantes conhecidas, como a vitamina C, vitamina E, e o ácido caféico. Os radicais livres são importantes nos processos de envelhecimento precoce, diabetes, processos inflamatórios e outras doenças crônicas (Wang e Mineshita, 1993 *apud* MARCUCCI, 1996).

MATSUSHIGE et al. (1995) demonstraram que a própolis brasileira exerce uma potente atividade antioxidante ao testarem amostras de algumas regiões do Brasil (Rio Grande do Sul e São Paulo), coletadas em colônias próximas à florestas de Eucalyptus, florestas de Araucaria e lavouras de *Citrus*. As espécies fornecedoras de resinas não foram identificadas. A atividade antioxidante das amostras foi comparada, havendo diferenças entre elas. No ano seguinte, MATSUSHIGE et al. (1996), demonstraram a capacidade do extrato aquoso da própolis brasileira na proteção contra a destruição e disfunção das células  $\beta$  pancreáticas, contra a toxidez da estreptozotocina, que é uma droga utilizada para indução de diabetes. Segundo conclusão dos autores, o extrato aquoso apresentou significativa atividade antioxidante.

BASNET et al. (1996), através de estudo *in vitro* (células do fígado) e *in vivo* com ratos, induzindo, em ambos os casos, doenças do fígado (hepatite) através da administração do CCL4 (tetracloreto de carbono) e D-galactosamina (GalN/lipopolissacarídeo), demonstraram que o extrato aquoso da própolis brasileira exerceu uma significativa atividade hepatoprotetora, reduzindo significativamente as lesões causadas por intoxicações decorrentes das substâncias administradas.

Muitos pesquisadores atribuem o potencial biológico da própolis ao efeito sinérgico que ocorre entre muitos constituintes da própolis, ou seja, o potencial antibacteriano da própolis não é devido à presença de uma substância em particular, mas resultante da ação complexa de vários compostos (BONVEHÍ e COLL, 1994; MARCUCCI, 1996), opinião esta

compartilhada por BANKOVA et al. (1995), que afirma que a atividade antibacteriana da própolis se deve também a uma mistura de constituintes voláteis, fato este não observado em amostras de própolis da Bulgária, e sim do Brasil.

WOISKY et al. (1994) e MIRZOEVA et al. (1997) testaram a atividade antimicrobiana da própolis contra várias linhagens de bactérias. Os autores verificaram que a própolis tem demonstrado maior ação inibidora, *in vitro*, sobre as linhagens Gram positivas do que sobre Gram negativas.

MARCUCCI (1996), avaliando a atividade antifúngica da própolis, verificou que combinações de drogas antimicóticas com própolis, aumentaram o efeito ativo sobre os organismos testados (*Candida albicans*). A mesma autora afirma que testes realizados com 30 amostras de própolis, contra duas linhagens de *Candida albicans*, em Cuba, evidenciaram que os extratos aquosos não apresentaram nenhum efeito fungicida, enquanto que os extratos alcoólicos apresentaram um pequeno efeito.

Valdez (1987 *apud* MARCUCCI, 1996) verificou o efeito da própolis contra *Giardia lamblia*, e também sobre inflamações causadas por *Trichomas vaginalis*, sendo que para este organismo constatou-se 0% de sobrevivência.

Linhagens de vírus tais como: herpes simplex (tipo 1 e 2), adenovírus tipo 2, poliovírus tipo 2 e vírus que provocam estomatite vesicular, foram submetidas ao efeito de flavonóides quanto à sua virulência e duplicação (MARCUCCI, 1996).

Crisina e Kaempferol, dependendo da concentração da droga, exibiram uma redução na duplicação intracelular em herpes. Quercetina apresentou redução na concentração apenas quando em concentração alta. Evidenciou-se que a própolis é muito ativa (*in vitro*) contra poliovírus e herpes. Enquanto que adenovírus e o vírus da estomatite vesicular se mostraram menos susceptíveis. O efeito sinérgico entre compostos mostrou ser um fator eficiente na atividade antiviral quando comparado a administrados isoladamente (AMOROS et al., 1992a; AMOROS et al., 1992b).

Outras atividades terapêuticas da própolis são citadas: propriedades antiinflamatórias (GHISALBERTI, 1979; MARCUCCI, 1995; BURDOOCK,

1988), eficácia clínica em doenças do sistema respiratório e propriedades anestésicas (VANHAELEN e VANHAELEN-FASTRÉ, 1979), atividades cicatrizantes (Magro-Filho e Carvalho, 1994 *apud* MARCUCCI, 1996), regeneração de tecidos cartilagosos e ósseos (GHISALBERTI, 1979; MARCUCCI, 1995), tratamento de queimaduras, recuperação de poupa dentária, anticárie em ratos (IKENO et al., 1991; SANTOS, 1999), atividade antiúlcera *in vitro*, atividade imunoreguladora do organismo através da ação de derivados do ácido caféico (TATEFUGI et al., 1996), antissépticas, adstringentes e hipotensivas (Ikeno e Ikeno, 1998, citados por MARCUCCI, 1996).

#### **2.4. Origem botânica da própolis**

A própolis tem sua principal origem em secreções vegetais (OLIVEIRA e BASTOS, 1999). Segundo MARCUCCI (1999), o material disponível para as abelhas elaborarem a própolis é produzido através de uma variedade de processos fisiológicos em diferentes partes da planta. Apesar de hoje existirem poucas referências na literatura sobre quais espécies vegetais seriam fornecedoras de resinas, para a produção de própolis, algumas espécies são citadas por alguns autores. Dentre eles, CRANE (1988) apresenta uma lista de espécies de plantas de várias partes do mundo. Também OLIVEIRA e BASTOS (1999) citam algumas espécies que hoje são conhecidas. São elas: na Europa *Populus*, *Betula*, *Alnus*, *Quercus*, *Salix*; nos Estados Unidos *Populus* e *Pinus*; no sul da África *Populus deltoides* (exótica) e *Acacia karroo*; nas ilhas do Havai *Plumeria*, *Eucaliptus*, *Schinus terenbithifolius* e *Psidium guajaba* (sendo estas três últimas exóticas no Brasil). São ainda citadas *Araucaria heterophylla*, *Clusia minor* e *Clusia major* como fontes de resinas coletadas pelas abelhas no Brasil (BANSKOTA et al., 1998).

Entretanto, na América do Sul, pouco se sabe sobre que plantas estariam fornecendo resinas, tampouco sobre as estruturas secretoras e o tipo de secreções produzidas por estas plantas (OLIVEIRA e BASTOS, 1999).

As informações que se tem a respeito de prováveis plantas fornecedoras de resinas, raramente estão baseadas em análises comparativas entre os constituintes da própolis e das secreções das plantas, e, na maioria das vezes, são baseadas no comportamento de coleta das abelhas. MARCUCCI (1999) propõe então a análise comparativa entre os constituintes da própolis e os constituintes encontrados nas resinas dos vegetais visitados pelas abelhas, para que se evidencie a sua procedência botânica. Porém, a observação da atividade de coleta pelas abelhas se constitui numa tarefa difícil, principalmente em regiões tropicais, onde existe uma grande variabilidade de espécies vegetais. Entretanto, uma técnica de observação da atividade de coleta de própolis pelas abelhas foi demonstrada por SANTOS (1996) e SANTOS e MESSAGE (1997). Estes últimos, estudando o comportamento de abelhas africanizadas na coleta e manipulação de própolis, observaram que as abelhas coletavam própolis em gemas apicais e axilares de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim). Também foi observada que esta atividade ocorreu em todas as épocas do ano.

Para se identificar a espécie vegetal visitada pelas abelhas por meio da identificação das estruturas secretoras encontradas na própolis, OLIVEIRA e BASTOS (1999) utilizaram a técnica descrita por WARAKOMSKA e MACIEJEWICZ (1992), na qual é possível se obter os componentes insolúveis no sedimento sólido da própolis. Os autores constataram a presença de *Baccharis dracunculifolia* no sedimento sólido das amostras de própolis. Observaram que os fragmentos encontrados na própolis eram idênticos, em estrutura, aos tricomas existentes na folha de *Baccharis dracunculifolia* DC.

BANKOVA et al. (1999) encontraram alguns componentes (flavonóides) em exsudatos de folhas de *Baccharis dracunculifolia*, os quais estavam presentes em amostras de própolis brasileiras analisadas.

*Baccharis dracunculifolia* se constitui numa espécie fornecedora de matéria prima (resinas) para a elaboração de própolis pelas abelhas no Brasil (SANTOS e MESSAGE, 1997, BANKOVA et al., 1999, OLIVEIRA e BASTOS 1999) e esta espécie pertence à família Asteraceae.

A família Asteraceae é, reconhecidamente, a maior família do Reino Vegetal, sendo que, segundo JUDD (1999), compreende 1.535 gêneros e

cerca de 23 mil espécies conhecidas, distribuídas em três subfamílias e 17 tribos. De acordo com WAGNER (1997), o potencial científico e médico da família Asteraceae, se constitui em um importante material a ser investigado, pois existe uma conexão direta entre as propriedades físico-químicas dos compostos predominantemente lipofílicos e as atividades biológicas e farmacológicas verificadas na família. Os materiais lipofílicos secretados pelas plantas consistem-se em uma variedade de compostos, incluindo terpenos, óleos essenciais, resinas, ceras, gorduras e flavonóides agliconas (SCHNEPF, 1974). De acordo com FAHN (1979, 1988), o material lipofílico é secretado por várias estruturas secretoras: idioblastos ou células isoladas, tricomas, cavidades e ductos. Ductos, cavidades, idioblastos, laticíferos, nectários, hidatódios e diferentes tipos de tricomas são estruturas secretoras que já foram observadas em espécies de Asteraceae (SOLEREDER, 1908; METCALFE e CHALK, 1950; CARLQUIST, 1958b; PYYKKO, 1966; FUEYO, 1986; MONTEIRO, 1986; MEIRA, 1991; MONTEIRO et al., 1995; CASTRO, 1997).

Segundo SOLEREDER (1908), as estruturas secretoras são de utilidade para os estudos taxonômicos, considerando a diversidade de tipos e a variedade de substâncias secretadas aliadas ao fato de poderem ocupar várias posições nas diferentes partes do corpo vegetal, ocorrendo em todos os seus órgãos, em alguns destes ou, então, estar confinados à apenas um órgão. Assim, a avaliação do tipo de estrutura associada à sua posição, pode constituir-se em bons caracteres taxonômicos, pois quando estão presentes, estas características são, freqüentemente, constantes nas variedades em que ocorrem (SOLEREDER, 1908; METCALFE e CHALK, 1950; PYYKKO, 1966; ESAU, 1977; FAHN, 1979).

Na família Asteraceae, as estruturas secretoras têm sido utilizadas para a identificação de espécies vegetais envolvidas na produção de própolis pelas abelhas. OLIVEIRA e BASTOS (1999) identificaram, no sedimento sólido de própolis, tricomas glandulares e tectores com a mesma estrutura descrita para folha de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). Os autores sugerem que as abelhas coletam a resina produzida pelos tricomas glandulares localizados nos ápices vegetativos, pois nos estádios iniciais de desenvolvimento, as folhas apresentavam numerosos tricomas tectores e glandulares.

## 2.5. Estruturas secretoras em Asteraceae

O número de tricomas é variável em uma espécie, e pode haver mais de um tipo de pêlos sobre a superfície da folha. Em *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) existem tricomas glandulares e tricomas tectores (CASTRO, 1987; OLIVEIRA e BASTOS, 1999). Os tricomas glandulares iniciam seu desenvolvimento a partir de uma célula epidérmica que sofre uma divisão anticlinal, o que estabelece a natureza biseriada dessa estrutura. Após aumento em volume da região distal, cada uma dessas células divide-se formando outras quatro, por divisão periclinal. Sucessivas divisões periclinais dão origem a um tricoma glandular formado por 6-8 células distais e duas basais, coberto por cutícula e com citoplasma denso. Os tricomas tectores têm forma de T, com pedúnculo pluricelular e uma célula apical periclinalmente alongada, com paredes espessadas (CASTRO, 1987; OLIVEIRA e BASTOS, 1999).

Quanto às estruturas secretoras internas, foram citados para espécies de *Baccharis* ductos secretores associados ou próximos ao floema (CASTRO, 1987; MEIRA, 1991; CLARO, 1994). Em *Baccharis dracunculifolia*, segundo CASTRO (1987), a expansão do primórdio foliar e as sucessivas divisões periclinais e radiais das células epiteliais também participam no estabelecimento do lume do ducto, que é formado por um único estrato de células epiteliais. Este mesmo autor afirmou ainda que, tais ductos podem ser considerados lisígeno-esquizógenos e que o início da formação do lume parece se dar pela degeneração de uma única célula, seguida da degeneração de outras, que compõem o grupo maciço de células formadoras do ducto.

Através do estudo da anatomia de folhas nos seus diversos estágios de desenvolvimento, a partir do ápice caulinar, pode-se caracterizar as estruturas secretoras de resinas e tricomas que podem servir como indicadores na determinação da origem botânica da própolis produzida por *Apis mellifera* (OLIVEIRA e BASTOS, 1999).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Locais dos experimentos**

O trabalho de campo foi conduzido em dois apiários experimentais sendo um localizado em Itapecerica, na região centro-oeste, e outro em Virginópolis, na região leste, ambas em Minas Gerais. Estes locais foram selecionados em função da ocorrência de tipos distintos e contrastantes de própolis (verde e escura). Foram utilizadas abelhas *Apis mellifera* africanizadas no experimento.

Em Itapecerica, região de cerrado antrópico, ocorre a própolis de coloração verde, aspecto resinoso e com aroma característico. Em Virginópolis, com características de transição de mata atlântica para cerrado, também antrópico, a ocorrência é da própolis escura, apresentando maleabilidade pegajosa e com aroma não característico.

#### **3.2. Obtenção do material biológico**

As colônias foram selecionadas dentre várias outras colônias existentes, em suas regiões de origem (Itapecerica e Virginópolis), segundo os seguintes critérios:

- Histórico da cor da própolis em cada colônia produzida ao longo das gerações (se própolis verde ou escura).

- Observação visual *in loco* da cor da própolis em cada colônia, escolhendo-se as que apresentaram a tonalidade de cor mais evidente para própolis verde e escura.

- Colônias apresentando população com bom aspecto sanitário, e em número suficiente de operárias.

Em cada um dos dois locais utilizados, foram selecionadas cinco colônias com produção de própolis característica de ocorrência em sua região, ou seja, própolis verde em Itapecerica e escura em Virginópolis, as quais foram selecionadas como matrizes (mães das colônias utilizadas no experimento). A partir de cada uma destas matrizes foram produzidas duas rainhas irmãs, totalizando dez rainhas filhas, originárias de cada uma das regiões. As novas rainhas foram introduzidas em colméias do tipo núcleo de fecundação, com capacidade para cinco quadros. As rainhas filhas (virgens) foram fecundadas livremente pelo processo natural, por zangões de sua própria região. Quarenta dias após a sua fecundação, cada uma das 10 colônias de cada região recebeu nova avaliação quanto ao aspecto e cor, aroma e maleabilidade da própolis produzida.

Das dez colônias de Itapecerica, cinco foram transportadas para Virginópolis ficando os seus respectivos pares em Itapecerica, e das dez colônias de Virginópolis cinco foram transportadas para Itapecerica ficando os seus respectivos pares em Virginópolis. Desta forma em cada um dos apiários experimentais, permaneceram cinco colônias que produziam própolis verde e cinco que produziam própolis escura, segundo características da própolis produzida em sua região de origem (Quadro 1). Após a estabilização dos enxames e depois de transportados para os locais definitivos, as famílias foram transferidas dos núcleos de fecundação para ninhos modelo Langstroth, com capacidade de dez quadros. Durante esta transferência, procedeu-se limpeza completa dos resíduos de própolis produzida em cada uma das vinte colônias do experimento, sendo removida toda a própolis encontrada entre os favos e em outros espaços.

As coletas da própolis produzida em cada colônia foram realizadas em agosto, setembro e outubro de 1999.

As matrizes permaneceram em seus locais de origem, com o objetivo de se preservar o material genético (rainha), caso houvesse necessidade de reposição.

Com esta estratégia objetivou-se verificar se a rainha com genótipos provenientes de uma mesma mãe produziam descendentes capazes de manter a produção de própolis do mesmo tipo, independente da região, mostrando o efeito do genótipo, ou se passariam a produzir própolis do tipo específico de cada região, mostrando um efeito de local.

### **3.3. Método para indução da produção de própolis**

Em cada uma das colônias foi feita abertura de cerca de 3 mm, com o uso de espaçador de madeira, entre a tampa e o último elemento da colméia para estimular a propolização no local. O uso de espaçadores com as dimensões entre 1,0 e 4,5 mm, que facilitam a entrada de correntes frias nas colônias, com as dimensões entre 1,0 e 4,5 mm, têm proporcionado os melhores resultados na quantidade da própolis produzida (ASIS, 1979).

### **3.4. Coleta e acondicionamento das amostras de própolis**

Foi coletado um total de 60 amostras de própolis. Coletou-se durante três meses (agosto, setembro e outubro de 1999) toda a própolis produzida por cada uma das colônias, em cada uma das localidades. Desta forma, de cada localidade, pôde se obter cinco amostras originárias de abelhas de uma região, e cinco de outra região, em cada mês. O método utilizado foi o de raspagem com o formão. As amostras foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos atóxicos e conservadas em freezer à temperatura de -17 °C, até o momento das análises.

### **3.5. Análises**

As análises de determinação da origem botânica da própolis foram realizadas no Laboratório de Microscopia da Fundação Ezequiel Dias em

Belo Horizonte-MG e no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

### **3.5.1. Análise macroscópica da própolis**

Cada amostra foi analisada visualmente, quanto à sua cor, recebendo uma classificação, para esta característica de verde, preta ou marrom. Foram também analisadas as variáveis aroma e aspecto (maleabilidade) da própolis coletada. Adotou-se a classificação “característico” ou “não-característico” e “resinosa” ou “pegajosa”, para as duas características sucessivamente (MARCUCCI, 1996).

Estas análises foram feitas após todas as coletas terem sido realizadas.

### **3.5.2. Análises microscópicas da própolis**

#### **3.5.2.1. Determinação da origem botânica da própolis**

Para avaliar a origem da própolis, pode-se utilizar métodos diretos, através do qual se observa a abelha diretamente coletando na fonte, ou pode-se utilizar métodos indiretos, comparando-se as estruturas vegetais presentes nas partes insolúveis da própolis, com as amostras das espécies vegetais da região, exploradas pelas abelhas.

Para se determinar a fonte da variação de cor ocorrida nas amostras de própolis, procurou-se identificar a sua origem botânica. A técnica utilizada foi aquela descrita por WARAKOMSKA e MACIEJEWICZ (1992), na qual é possível se obter os componentes insolúveis da própolis no sedimento. Através desta técnica, as partes do vegetal que contiverem paredes celulares são preservadas, pois são insolúveis em solventes orgânicos. A cera e as resinas presentes são extraídas por estes solventes. Os tecidos vegetais também não são danificados (WARAKOMSKA e MACIEJEWICZ, 1992). Deste modo, foram preparadas as lâminas do sedimento sólido da própolis. As lâminas foram analisadas ao microscópio de luz para a identificação das estruturas vegetais presentes (VANHAELEN e

VANHAELEN-FASTRÉ, 1979; WARAKOMSKA e MACIEJEWICZ, 1992; OLIVEIRA e BASTOS, 1999).

As amostras de própolis foram coletadas e as lâminas preparadas. Foram pesadas 0,5 gramas de própolis bruta, aos quais foram adicionados 15 mililitros de etanol p.a., que após agitação e descanso por 12 horas, sofreu centrifugação de 15 minutos à 2000 RPM. Após decantação, desprezando-se o sobrenadante, a mistura foi ressuspensa com 13 mL de etanol, sofrendo nova centrifugação, repetindo-se o procedimento anterior. Após isso, foram acrescentados 12 mL de KOH a 10%, sendo aquecido por 2 minutos à 100 °C, em banho maria. A mistura foi levada ainda quente ao ultrassom por 5 minutos, sofrendo nova centrifugação por 15 minutos (2.000 RPM), desprezando-se o sobrenadante. Após isso, a mistura foi transferida para outros tubos de centrífuga, passando por tela de malha fina (0.3 mm) separando o sedimento com partículas maiores. Deste sedimento retido na tela, as lâminas foram montadas em gelatina glicerinada.

Foi feita então a contagem das estruturas vegetais encontradas nas amostras. Utilizou-se na contagem microscópio de luz, com ocular de 10X e objetiva de 20X (aumento de 200X). Foram contados os tricomas glandulares, tricomas tectores, dentes da margem da folha, fragmentos de epiderme e outros, onde neste último item foram agrupados pólen, fibras de tecidos vegetais, tricomas de espécies vegetais de ocorrência ocasional.

Após a identificação das estruturas vegetais presentes nas amostras de própolis, estes dados foram comparados com a anatomia da folha das espécies vegetais presentes no raio de atividade das abelhas.

As ilustrações foram obtidas em um fotomicroscópio OLYMPUS AX 70, equipado com o sistema U-Photo.

### **3.5.2.2. Anatomia foliar das espécies vegetais presentes no raio de atividade das abelhas**

Foram coletados ramos de plantas em Virginópolis e Itapeçerica. Parte deste material foi fixado em FAA 50 e parte foi herborizada. As plantas herborizadas foram identificadas e encontram-se depositadas no Herbário da

Universidade Federal de Viçosa (VIC) sob os números (25047; 25249). As amostras fixadas foram estocadas em etanol 70%.

Destas plantas, foram selecionadas as folhas para a produção de lâminas histológicas. Parte das amostras foi cortada (cortes transversais e longitudinais), sendo os cortes corados em fucsina e azul de astra e as lâminas montadas em bálsamo do Canadá (JOHANSEM, 1940). Os materiais herborizados foram hidratados previamente conforme metodologia usual (SMITH e SMITH, 1942).

Este laminário foi utilizado como referência para a identificação das espécies vegetais que fazem parte da composição da própolis.

As lâminas de *Baccharis dracunculifolia* do Laminário de Referência do Laboratório de Microscopia da Fundação Ezequiel Dias foram os primeiros materiais de referência para a identificação da espécie nas amostras de própolis coletadas, conforme já observado por OLIVEIRA e BASTOS (1999), em Jaboticatubas, Minas Gerais.

As ilustrações foram obtidas em um fotomicroscópio OLYMPUS AX 70, equipado com o sistema U-Photo.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Avaliação da influência do local de produção e da origem das abelhas na cor da própolis

Pôde-se observar durante as coletas, que na região de Itapecerica existe uma abundância de plantas da família Asteraceae identificadas como *Baccharis dracunculifolia* VIC (25249) e também de *Vernonia rubriramea* VIC (25047). Já na região de Virginópolis, no local onde o experimento foi realizado, pode-se observar a presença de *Vernonia rubriramea* com certa abundância, porém, com uma baixíssima frequência de *Baccharis dracunculifolia*.

A tentativa de se avaliar estatisticamente as espécies vegetais encontradas nas amostras analisadas, foi inviabilizada pela verificação da instabilidade das variáveis. Os altos valores do coeficiente de variação (CV), acima de 80%, demonstraram uma grande variabilidade nas características, indicando que outros fatores devem estar influenciando estas características. Entretanto, foi possível avaliar que plantas contribuíram para a elaboração da própolis à partir de cada lâmina preparada, em cada localidade e em cada época de coleta, através de identificação e contagem das estruturas secretoras encontradas nestas lâminas. Os Quadros 1, 2, 3 e 4, mostram os resultados obtidos nesta contagem, que relacionam a cor da própolis, com a (s) espécie (s) de plantas encontradas e identificadas pelo estudo de sua

anatomia. No material coletado no apiário instalado em Itapecerica houve predominância de estruturas de *Baccharis dracunculifolia*, enquanto que no material originário do apiário instalado em Virginópolis, a predominância principal foi de *Vernonia rubriramea*, embora algumas colônias também tenham coletado em *B. dracunculifolia* de maneira significativa.

No Quadro 1 são apresentados os resultados das características cor, consistência e aroma da própolis produzida por abelhas provenientes de colônias selecionadas para produção de própolis verde no município de Itapecerica, quando introduzidas em Itapecerica, e suas irmãs correspondentes, em Virginópolis, conforme delineamento descrito. Estes resultados mostram a influência das condições de local em duas populações geneticamente semelhantes.

Quadro 1 - Características da própolis produzida nos meses de agosto, setembro e outubro de 1999 nos municípios de Itapecerica e Virginópolis a partir de colônias de abelhas, cujas rainhas eram filhas de matrizes originalmente selecionadas no município de Itapecerica como produtoras de própolis verde

Colônia	Local da Coleta					
	Itapecerica			Virginópolis		
	Agosto	Setembro	Outubro	Agosto	Setembro	Outubro
R2	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	P.P.PC	P.P.PC	-
R3	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	P.P.PC	P.P.PC	P.P.PC
R4	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	P.P.PC	M.P.PC	P.P.PC
R5	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	P.P.PC	P.P.PC	V.R.C.
R6	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	P.P.PC	P.P.PC	P.P.PC

V.R.C = própolis verde, resinosa com aroma característico.

P.P.PC = própolis preta, pegajosa com aroma pouco característico.

M.P.P.C = própolis marrom, pegajosa com aroma pouco característico.

- = dado perdido (características organolépticas descaracterizadas no acondicionamento).

A própolis produzida pelas cinco colônias originárias de Itapecerica, quando instaladas em Itapecerica, era de cor verde, resinosa e aroma característico. Já as cinco colônias de mesma origem geográfica que as anteriores, quando instaladas no município de Virginópolis, produziram, principalmente, própolis preta, pegajosa e de aroma pouco característico.

Duas exceções foram registradas em Virginópolis. No mês de setembro uma colônia produziu própolis de cor marrom, e, no mês de outubro, outra colônia produziu própolis de cor verde (Quadro 1).

No Quadro 2 são apresentados os resultados das colônias originárias das matrizes de Virginópolis e introduzidas neste município e em Itapecerica, com delineamento experimental semelhante ao anterior.

Quadro 2 - Características organolépticas da própolis produzida nos meses de agosto, setembro e outubro de 1999 nos municípios de Itapecerica e Virginópolis a partir de colônias de abelhas, cujas rainhas eram filhas de matrizes originalmente selecionadas no município de Virginópolis como produtoras de própolis preta

Colônia	Local da Coleta					
	Itapecerica			Virginópolis		
	Agosto	Setembro	Outubro	Agosto	Setembro	Outubro
M1	V.R.C.	M.P.P.C	V.R.C.	P.P.PC	P.P.PC	-
M2	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	P.P.PC	P.P.PC	P.P.PC
M3	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	P.P.PC	P.P.PC	P.P.PC
M4	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	P.P.PC	P.P.PC	P.P.PC
M5	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.	V.R.C.

V.R.C = própolis verde, resinosa com aroma característico.

P.P.PC = própolis preta, pegajosa com aroma pouco característico.

M.P.P.C = própolis marrom, pegajosa com aroma pouco característico.

Os resultados mostraram que as abelhas provenientes de Virginópolis produziram, naquele município, própolis preta em quase totalidade e, quando introduzida uma população geneticamente semelhante no município de Itapecerica, elas passaram a produzir a própolis característica desta região, ou seja, da cor verde, resinosa e aroma característico (Quadro 2).

Para as abelhas originárias de Virginópolis, apresentadas no Quadro 2, pode-se observar duas exceções nas características organolépticas analisadas. Quando instaladas em Virginópolis, uma destas colônias produziu própolis verde em todos meses analisados, e outra, no mês de setembro, produziu própolis marrom. Já quando instaladas em Itapecerica, uma das colônias produziu própolis marrom no mês de setembro. Nas duas

localidades, aparentemente, no mês de setembro foram observadas as principais variações (Quadro 2).

Os Quadros 3 e 4 são apresentadas avaliações qualitativas das estruturas vegetais, predominantes, da própolis produzida em Itapecerica e Virginópolis, por colônias de abelhas com rainhas oriundas de matrizes selecionadas em Itapecerica, e por colônias de abelhas oriundas de Virginópolis.

Quadro 3 - Avaliação qualitativa do sedimento sólido encontrado nas lâminas da própolis produzida na região de Itapecerica e Virginópolis pelas colônias originárias de Itapecerica

Colônia	Local da Coleta					
	Itapecerica			Virginópolis		
	Agosto	Setembro	Outubro	Agosto	Setembro	Outubro
R2	B	B	B	V	V+B	V
R3	B	B	B	V	V	V
R4	B	B	B	V	V+B	V+B
R5	B	B	B	V	V+B	B
R6	B	B	B	V	V+B	V+B

B – *Baccharis dracunculifolia*.

V – *Vernonia rubriramea*.

Quadro 4 - Avaliação qualitativa do sedimento sólido da própolis produzida na região de Virginópolis e Itapecerica, pelas colônias originárias de Virginópolis

Colônia	Local da Coleta					
	Itapecerica			Virginópolis		
	Agosto	Setembro	Outubro	Agosto	Setembro	Outubro
M1	B	B	B	V	V	V
M2	B	B	B	V	V	V+B
M3	B	B	B	V	V+B	V
M4	B	B	B	V	V+B	V
M5	B	B	B	B	B	B

B – *Baccharis dracunculifolia*.

V – *Vernonia rubriramea*.

A própolis produzida em Itapecerica, de cor verde, resinosa e aroma característico, apresenta predominantemente, ou quase totalmente, nos sólidos insolúveis, a presença de estruturas provenientes de *B. dracunculifolia*, independentemente se as colônias possuíam operárias coletoras de própolis, filhas de rainhas de Itapecerica (própolis verde) ou de Virginópolis (própolis preta). Em Itapecerica, foi observada uma exceção em uma das colônias, que apesar de apresentar estruturas de *B. dracunculifolia* em sua própolis, a cor da própolis no exame organoléptico foi caracterizada como marrom. Já, na própolis produzida em Virginópolis, por operárias de ambas as origens, pode-se observar a presença de estruturas de *Vernonia* sp., *B. dracunculifolia* ou ambas, e de *Pinus* sp., além de outros fragmentos não identificados, mostrando uma origem mais complexa desta própolis. Observa-se, também, a correlação entre própolis verde e presença de *B. dracunculifolia*, e própolis escura e presença de *V. rubriramea*, ou combinação de ambas.

## **4.2. Avaliação da origem botânica da própolis produzida na região de Itapecerica-MG (própolis verde) e Virginópolis-MG (própolis preta)**

### **4.2.1. Análise das estruturas vegetais encontradas no sedimento insolúvel da própolis**

Na própolis produzida nas regiões de Itapecerica e Virginópolis, foram observados tecidos e estruturas vegetais, grãos de pólen, partículas não identificadas que foram denominadas “outros” (Figuras 1 e 2). Estas figuras indicam que as abelhas são capazes de realizar cortes de fragmentos de tecidos vegetais, às vezes grandes, e carregados de estruturas secretoras internas e externas das folhas jovens.

Em Itapecerica puderam ser observadas, em um total de 30 lâminas, absoluta predominância de tricomas glandulares e tectores, hidatódios recobertos ou não dos referidos tricomas e fragmentos de tecidos de *B. dracunculifolia* (Figura 1). Também pode ser visto os mesmos tecidos e estruturas de *V. rubriramea* com menor incidência e, traqueídeos de *Pinus* sp., também com baixa incidência.

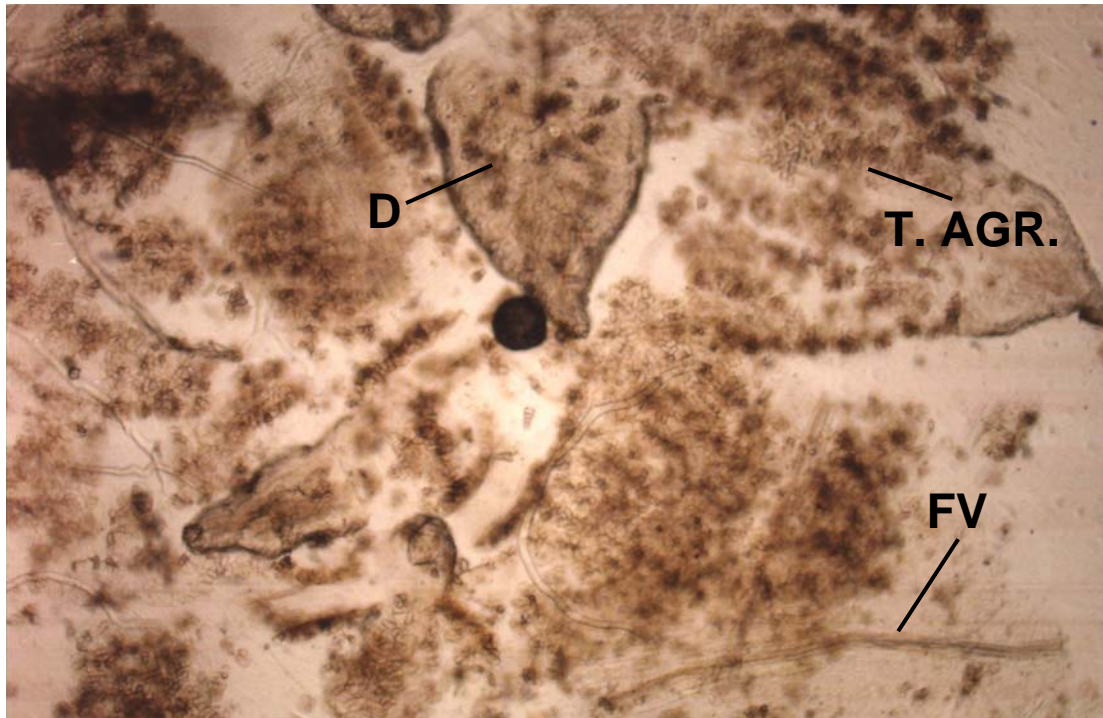


Figura 1 - Sedimento sólido de própolis de Itapecerica com fragmentos de *Baccharis dracunculifolia*. D = dente da margem da lâmina foliar; FV = feixe vascular; e T. AGR. = tricomas agrupados. Aumento aprox. 63X.

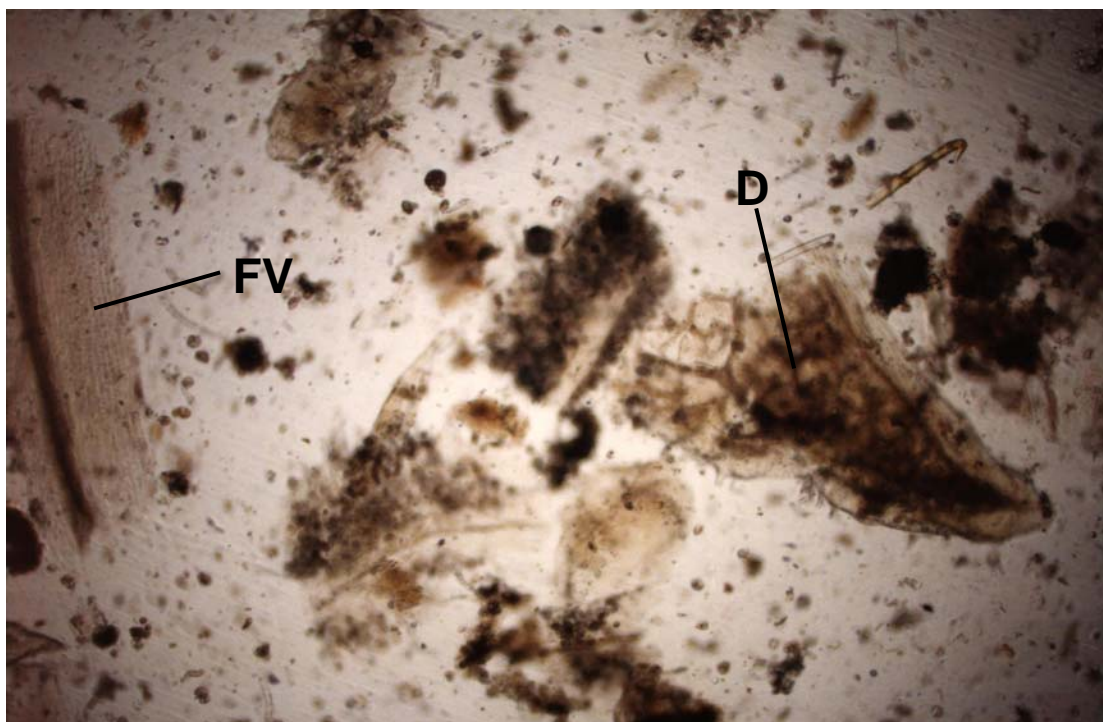


Figura 2 - Sedimento sólido da própolis Virginópolis com fragmentos de *Vernonia rubriramea*. D = dente da margem da lâmina foliar; FV = feixe vascular. Aumento aprox. 42X.

Em Virginópolis puderam ser observados, em um total de 30 lâminas, predominantemente tricomas glandulares e tectores, hidatódios e fragmentos de tecidos, recobertos ou não dos referidos tricomas de *V. rubriramea* (Figura 2). Foram registrados também as mesmas estruturas e tecidos de *B. dracunculifolia*, e maior incidência traqueídeos de *Pinus*, quando comparadas com as amostras de Itapecerica.

No sedimento de própolis de Itapecerica e Virginópolis, puderam ser observados hidatódios nos dentes da margem da lâmina foliar de *B. dracunculifolia* e *V. rubriramea* (Figuras 3 e 4). Hidatódios são estruturas que secretam água, identificados pela vascularização exclusivamente xilemática e pela presença de poros aquíferos na epiderme.

Puderam também ser observados ductos secretores associados ou próximos exclusivamente ao floema, característicos do gênero *Baccharis*. Esses ductos são ausentes em *Vernonia*. Em *Vernonia* pode ser visto células grandes e alongadas com conteúdo amarelo de aspecto granuloso, que provavelmente se trata de látex.

A confirmação da identificação das duas espécies vegetais observadas nas amostras de própolis das duas regiões foi possível pela comparação com as amostras coletadas na região de plantas de *B. dracunculifolia* e *V. rubriramea*. A comparação da estrutura anatômica permitiu o reconhecimento das espécies nas lâminas, mostrando a proporção de uma ou outra espécie presente em cada amostra de uma das localidades.

Em *V. rubriramea* são observados idioblastos secretores alongados associados aos feixes vasculares (Figura 5). O conteúdo dessas células foi preservado nos materiais fixados, nos materiais herborizados e na própolis (Figuras 4, 5, 9 e 10). Possivelmente estas células secretam látex (células laticíferas), pois nas plantas vivas, observou-se uma secreção leitosa de cor branca.

Na Figura 6 pode-se observar ductos secretores associados ao floema em *B. dracunculifolia*. Também pode-se ver cortes longitudinais no realizados no ápice das folhas jovens feitos pelas abelhas.

A Figura 7 (A e B) apresentam os ductos resiníferos de *B. dracunculifolia* em corte longitudinal (A) e transversal (B). Nelas é possível verificar a disposição das células que secretam resinas no ducto, que é um espaço intercelular.

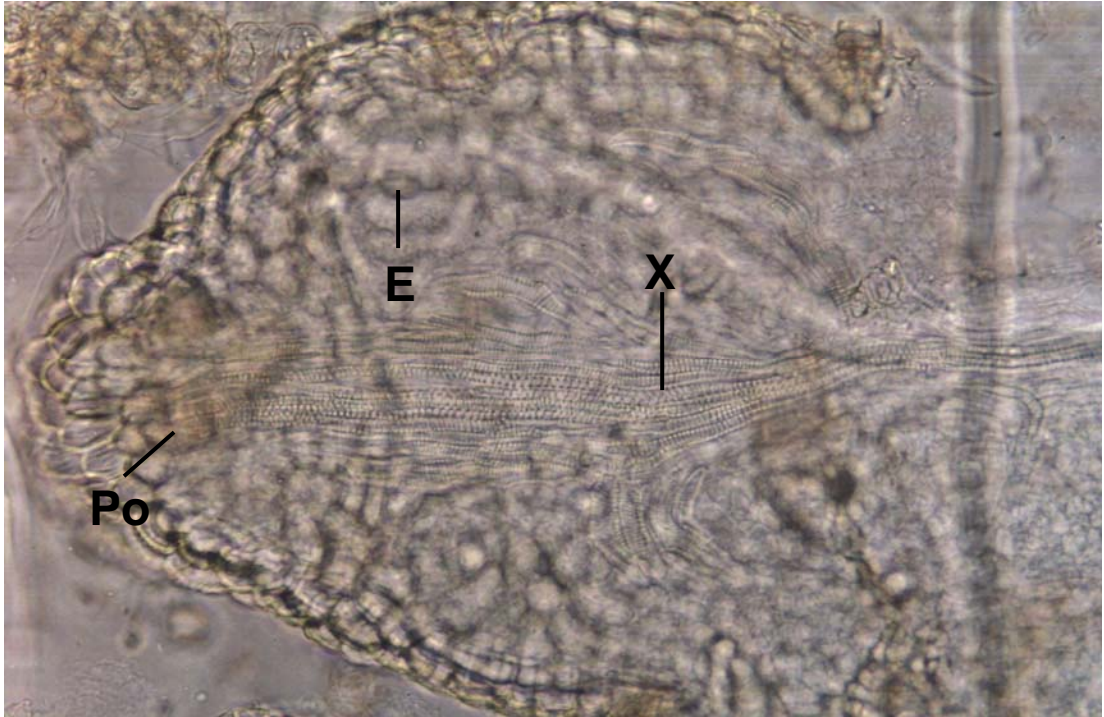


Figura 3 - Dente da lâmina foliar de *Baccharis dracunculifolia* com hidatódio na própolis de Itapeceira. X = xilema; E = estômato; Po = poro. Aumento aprox. 315X.

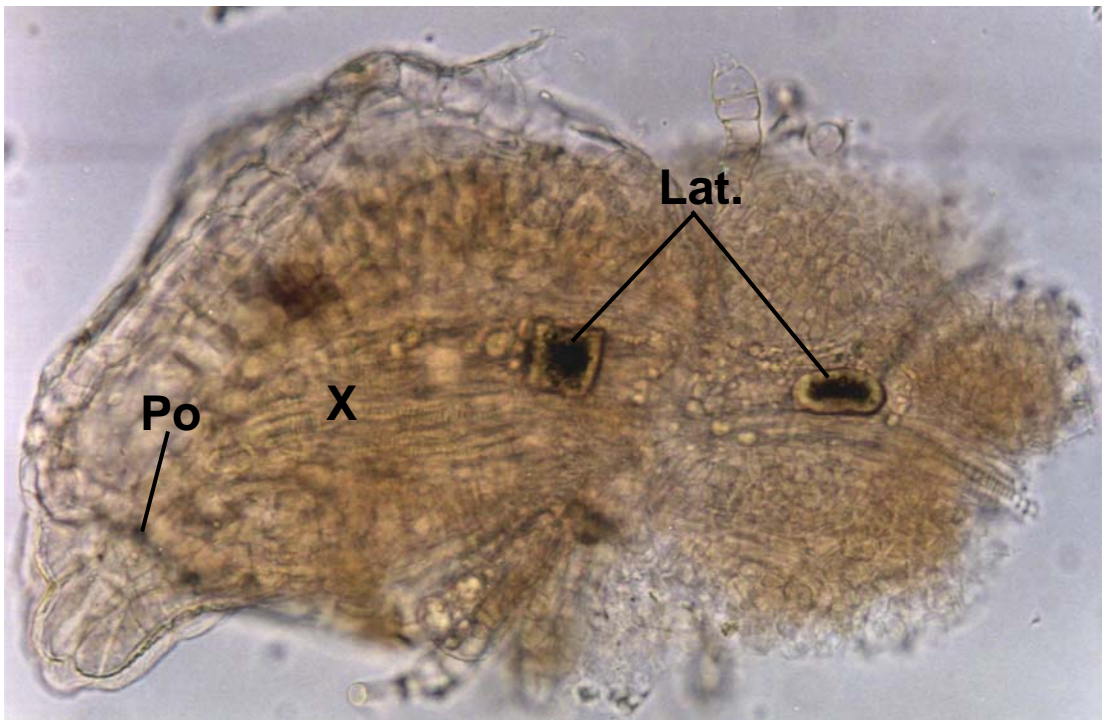


Figura 4 - Dente da lâmina foliar de *Vernonia* com hidatódio na própolis de Virginópolis. X = xilema; Est = estômato; Lat. = laticífero; Po = poro. Aumento aprox. 630X.

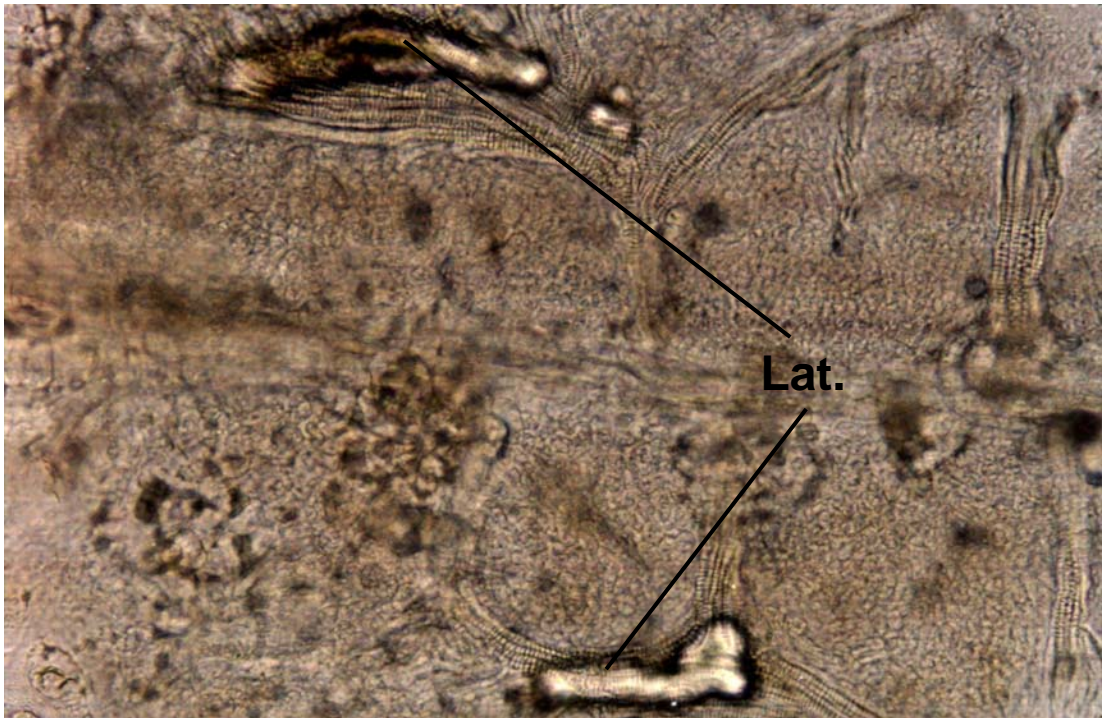


Figura 5 – Fragmento de tecido vegetal de *Vernonia rubriramea* da própolis produzida em Virginópolis. LAT = laticífero (idioblasto). Aumento aprox. 263X.

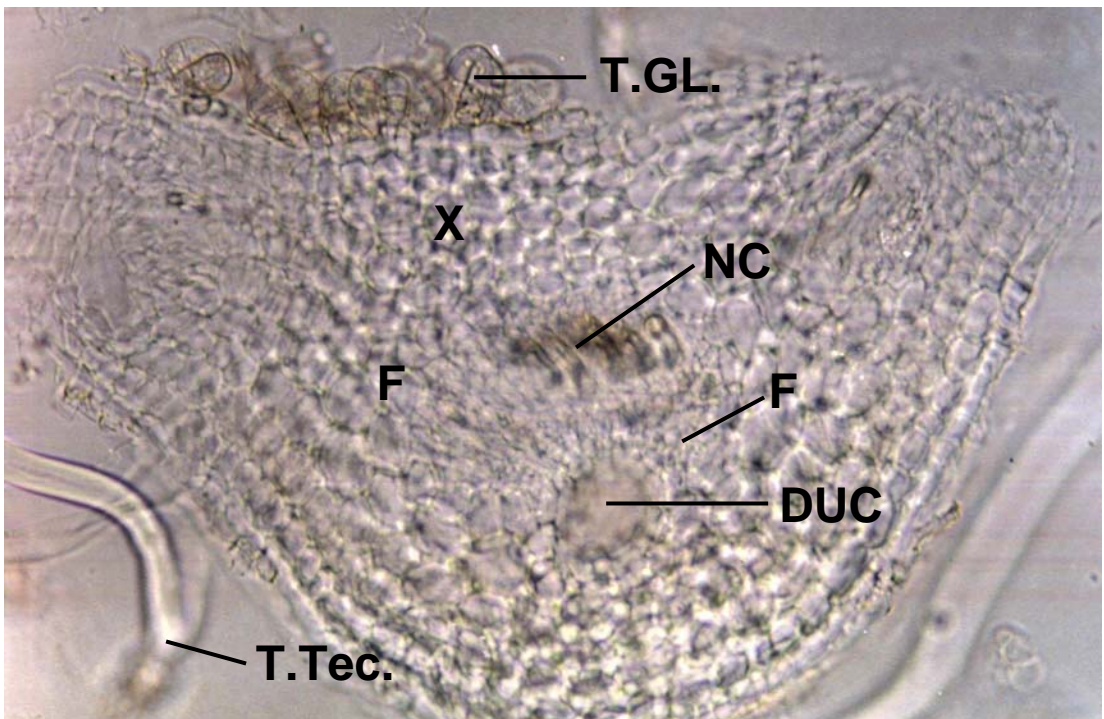


Figura 6 - Corte transversal do ápice foliar de *Baccharis dracunculifolia*, feito por abelha, na própolis de Itapecerica. DUC = ducto resinífero, X = xilema, F = floema, NC = nervura central, T.Tec = tricoma tector, T. GL = tricoma glandular. Aumento aprox. 630X.

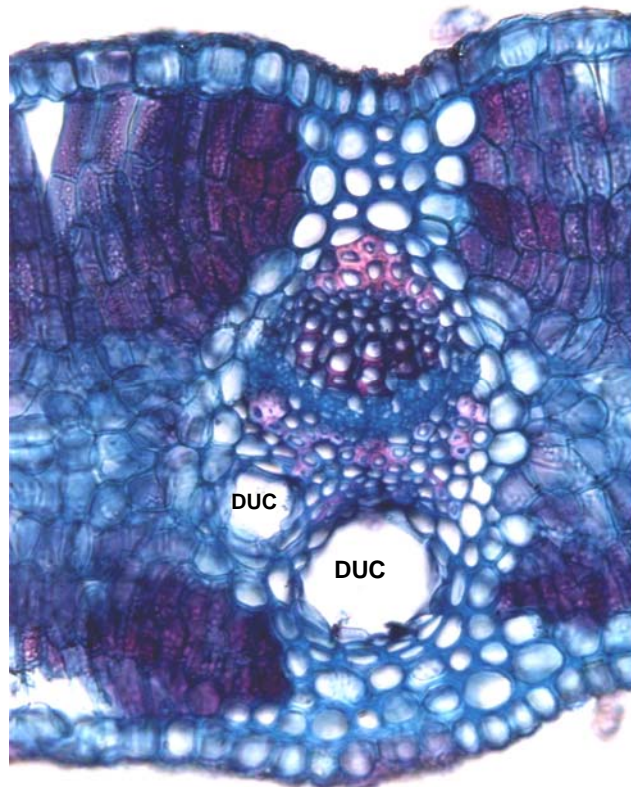
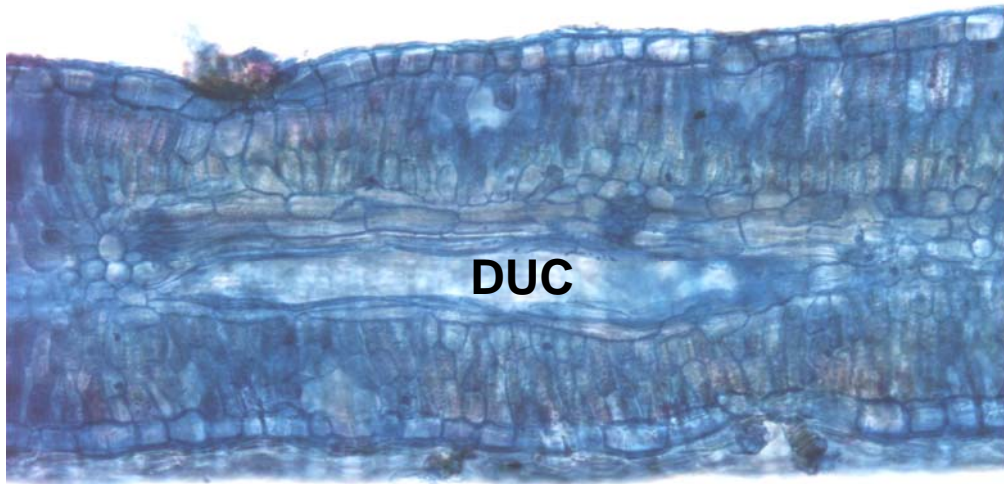


Figura 7 - Corte feito à mão em *B. dracunculifolia*, mostrando o ducto resinífero em corte longitudinal (A), e em corte transversal (B). DUC = ducto. Aumento aprox. 630X.

A Figura 8 (A e B) mostram um corte transversal em folha de *Vernonia rubriramea*, detalhando os idioblastos, mostrando o seu conteúdo celular.

A Figura 9 (A e B) mostram diferenças entre tricomas glandulares de *B. dracunculifolia* e *V. rubriramea*.

Na Figura 10 (A e B) pode-se ver a maneira que as resinas produzidas em tricomas glandulares de *V. rubriramea* podem estar sendo secretadas para a superfície da foliar. Observa-se que o tricoma glandular é revestido por uma cutícula que retém a resina produzida (A), e, que esta é secretada, exsudando naturalmente sobre a superfície da folha (B).

Na própolis de Virginópolis, pode ser observada a presença de traqueídeos de *Pinus* em uma frequência bem maior na própolis de Itapeçerica. A Figura 11 (A e B) mostram feixes de traqueídeos encontrados em amostras originárias de Virginópolis, sendo a cor da própolis preta.

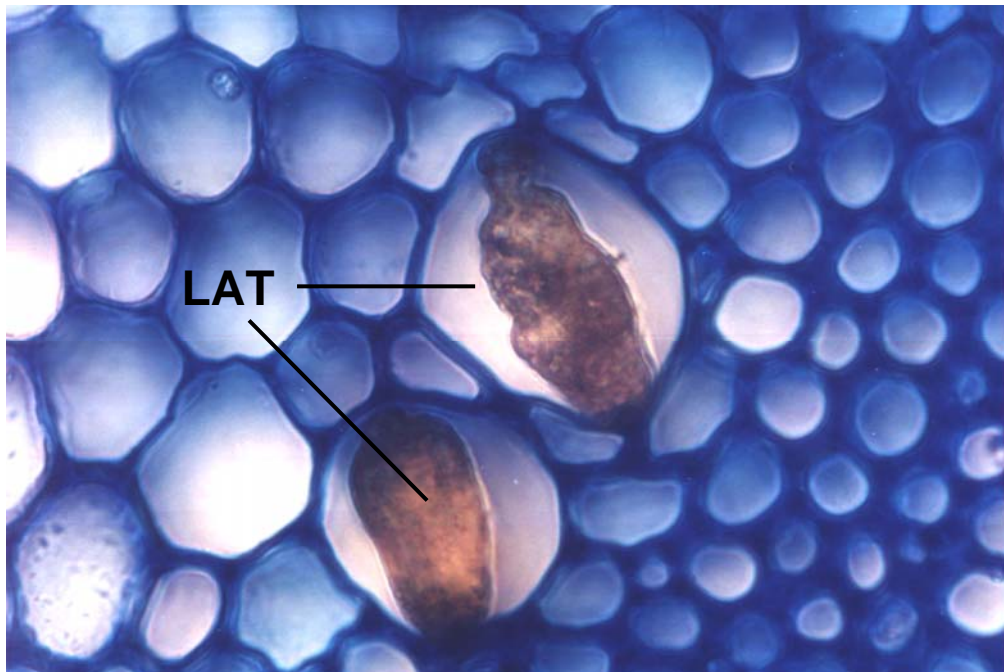
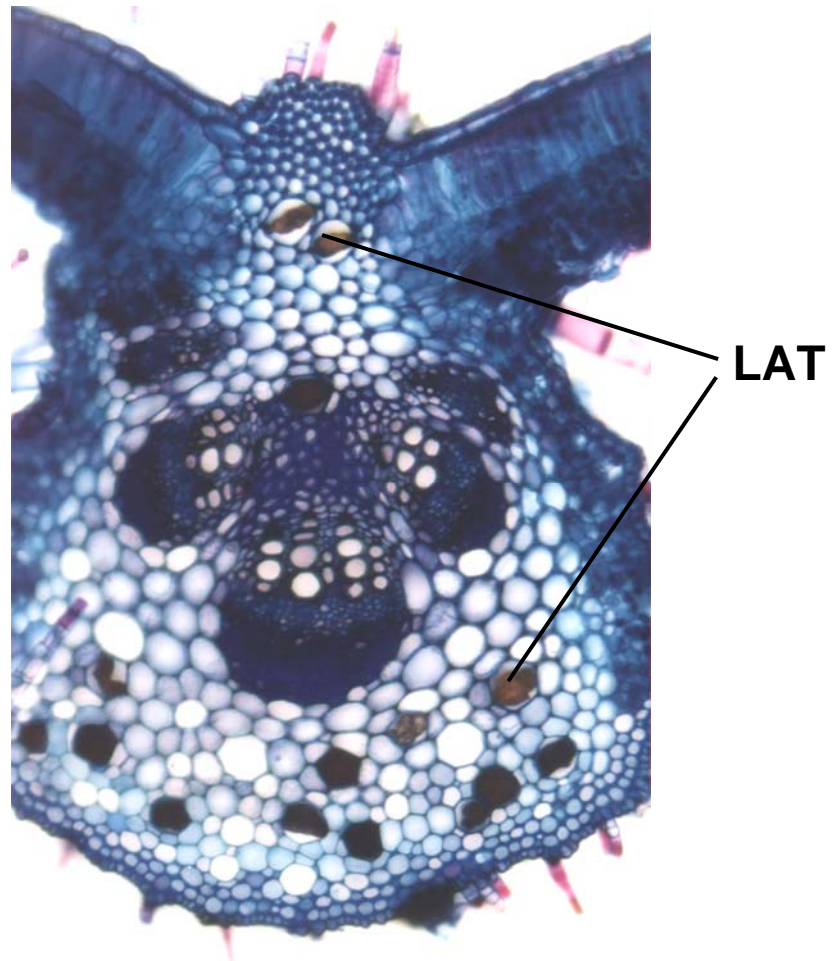


Figura 8 - Corte longitudinal feito à mão em *V. rubriramea*, mostrando o laticífero com seu conteúdo celular (A). LAT = laticífero. Aumento aprox. 630X, e detalhe do corte longitudinal feito à mão em *V. rubriramea*, mostrando o laticífero com seu conteúdo celular (B). LAT = laticífero. Aumento aprox. 840X.

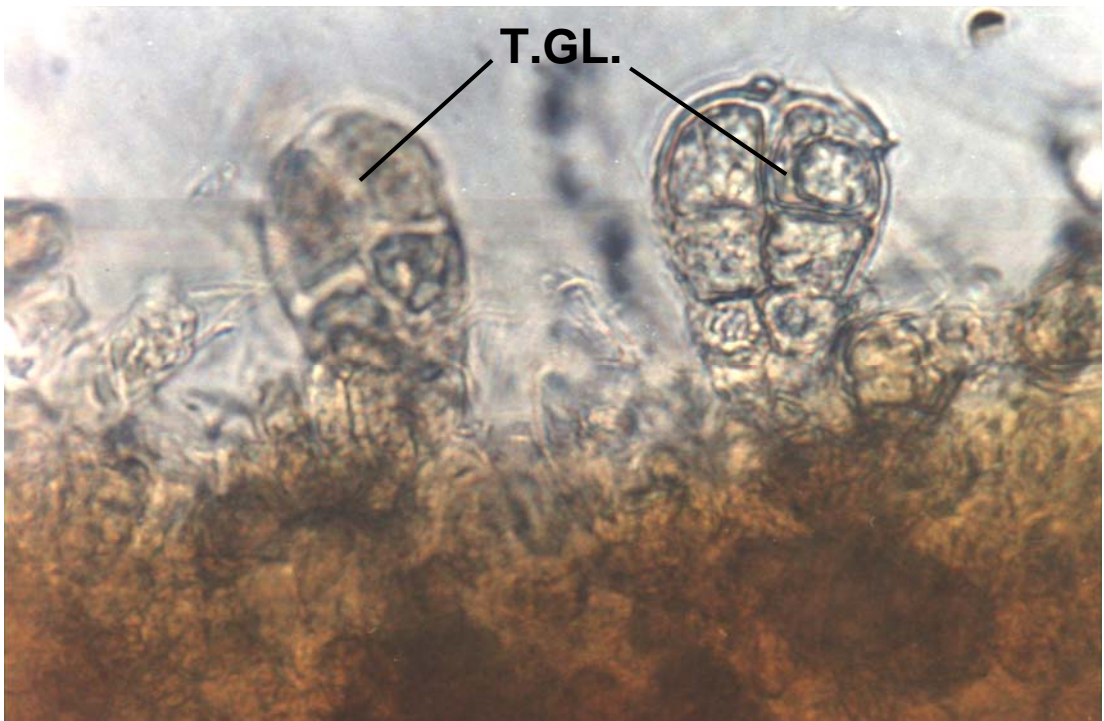
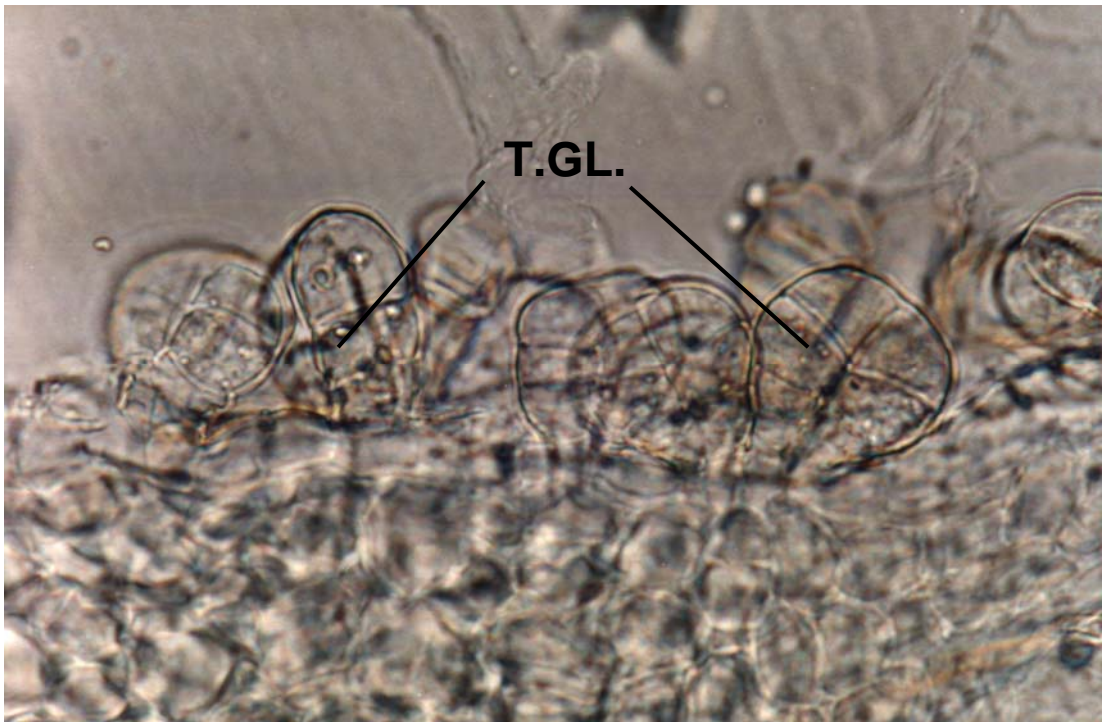
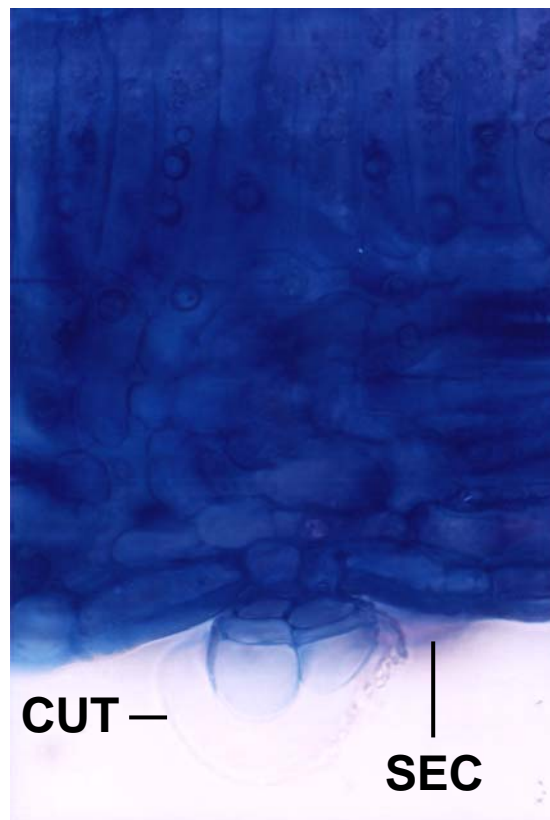
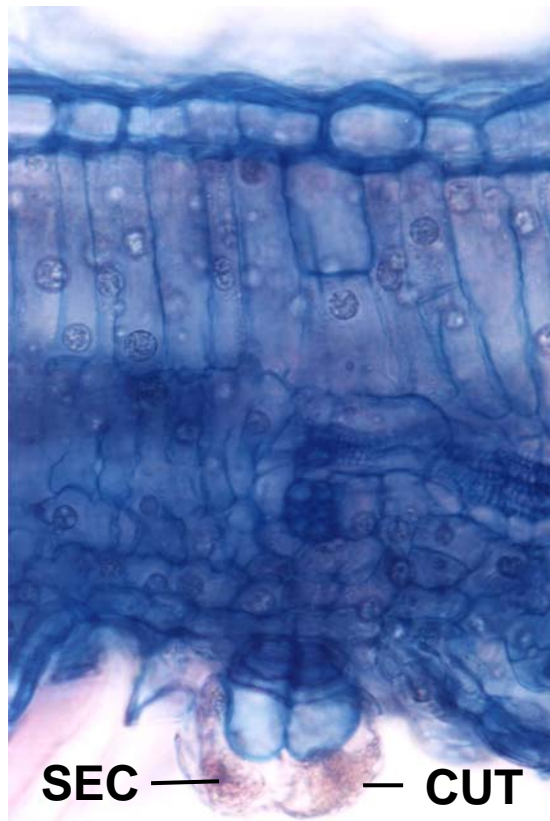
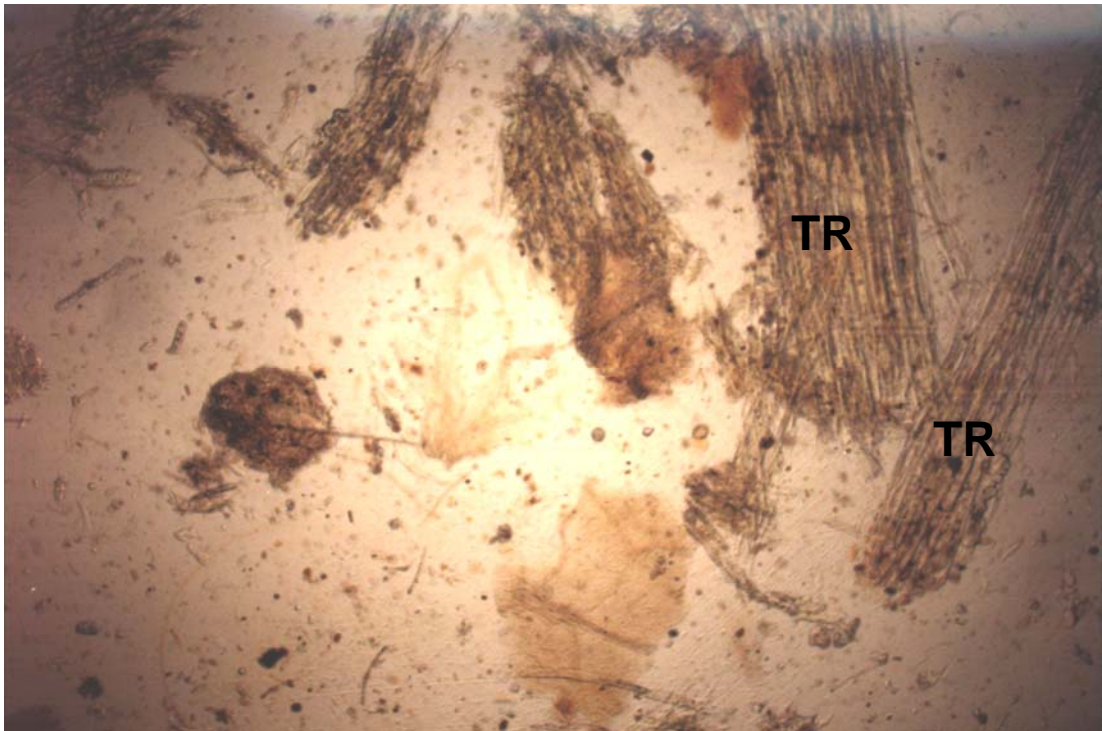


Figura 9 - Tricomas glandulares inseridos ns epiderme de *B. dracunculifolia* (A) e *V. rubriramea* (B). T. GL = tricoma glandular. Aumento aprox. 840X (11 e 12).



Figuras 10 - Corte feito à mão em *V. rubriramea* mostrando a cutícula envolvendo o tricoma glandular e a secreção retida no seu interior (A), e secretada na superfície foliar (B). CUT = cutícula; SEC = secreção. Aumento aprox. 840X.



Figuras 11 - Traqueídeos de pinus na própolis de Virginópolis. TR = traqueídeo; P = pontuação. Aumento aprox. 42X (15) 263X (12).

## **5. DISCUSSÃO**

### **5.1. Origem da cor verde e preta da própolis produzida respectivamente em Itapecerica-MG e Virginópolis-MG**

No mundo inteiro, nos estudos sobre própolis, um dos assuntos de maior relevância é a sua origem e, em especial a própolis brasileira, em função da sua importância econômica. A própolis brasileira tem sido uma das preferidas no mercado externo, em especial, a própolis verde. MARCUCCI e BANKOVA (1999) citaram que, em 1998, o número de artigos tratando de diferentes aspectos da própolis brasileira consistia em cerca de 50% do total publicado sobre própolis no mundo. Estas mesmas pesquisadoras também citaram que inúmeros compostos com atividade antitumoral e citotóxica tem sido isolados de própolis brasileira e parece, neste aspecto, mais promissor do que a própolis de regiões temperadas.

Dentro deste contexto, torna-se importante entender a origem da própolis brasileira e mais especificamente a própolis produzida no Estado de Minas Gerais, a qual pode variar também de região para região.

Não existem registros sobre a razão da diferença dos dois tipos específicos de própolis que ocorrem no Estado de Minas Gerais, sendo uma de cor verde, de grande preferência no mercado exportador e outra de cor preta e pegajosa, a qual não tem mercado no momento. Nas regiões de Itapecerica e Virginópolis, ambas no Estado de Minas Gerais, são

produzidas própolis verde e própolis preta, respectivamente. Ou esta variação na cor poderia ser conseqüência da vegetação da região da qual a abelha coleta a própolis, ou seja, a cor estaria relacionada com as plantas propoliníferas da região e com a sua abundância relativa, ou poderia estar relacionada com o genótipo das abelhas.

De acordo com a maioria dos autores, a composição química da própolis é dependente da flora do local de coleta pelas abelhas. Segundo BANKOVA et al. (1998) a composição química de própolis de diferentes regiões geográficas apresenta diferença entre elas, sugerindo que diferentes plantas estariam secretando diferentes exsudatos, e que este fato poderia estar relacionado com a sazonalidade.

Entretanto, estes autores não relacionam a composição química com o aspecto cor, embora esta variação também possa ocorrer em função da composição química, assim como a maioria das características originais da própolis. TOMÁS-BARBERÁN (1993) demonstrou que havia variações de cor dos extratos alcoólicos de amostras de própolis, quando estas eram originárias de diferentes regiões geográficas da Venezuela e do Brasil.

Por outro lado determinantes genéticos poderiam estar envolvidos tanto na preferência de coleta de determinado tipo de planta propolinífera quanto na atividade de um sistema enzimático presente nas linhagens das abelhas, que poderia promover uma modificação na cor da própolis, por exemplo através de oxidação. BONVEHI (1994) apóia a hipótese de que as secreções salivares são capazes de causar alterações na composição química da própolis e, conseqüentemente, de suas outras características através de algum sistema enzimático. KOO e PARK (1997) encontraram diferença significativa na qualidade e quantidade de flavonóides obtida de própolis produzida por duas variedades de abelhas em uma mesma região, indicando que a composição química da própolis era dependente da variedade da abelha. Apesar deste trabalho não fazer referência a questão de cor, ele mostra uma influência genética na produção da própolis, corroborando em parte com esta segunda hipótese.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que a flora propolinífera da região exerce um efeito preponderante na cor da própolis produzida, ou seja, o efeito do local é altamente significativo. As

descendentes das colônias selecionadas em Itapecerica para produção de própolis verde produziram, própolis verde quando testadas em Itapecerica e, preponderantemente, própolis preta quando testadas em Virginópolis. (Quadro 1). E as descendentes das colônias selecionadas em Virginópolis produziram, preponderantemente, própolis preta em Virginópolis, porém, quando testadas em Itapecerica, elas passaram a produzir, principalmente, própolis verde. Isto demonstra, claramente, a influência da vegetação do local na produção da própolis, concordando com BANKOVA et al. (2000).

Em Itapecerica existe uma flora abundante de alecrim (*Baccharis dracunculifolia*) apesar de existir também assa-peixe (*Vernonia* sp.). Por sua vez, em Virginópolis, foi possível observar durante as coletas poucas plantas de alecrim e uma flora mais abundante de assa-peixe.

Analisando os sedimentos insolúveis da própolis produzida nestes dois locais por colônias de duas origens genéticas diferentes, pode-se observar que em Virginópolis havia estruturas de tricomas tectores de *V. rubriramea*, *B. dracunculifolia*, traqueídeos de *Pinus*, além de outras estruturas não identificadas, mostrando que estas plantas estão contribuindo para a própolis produzida naquele local. Já em Itapecerica as análises dos sedimentos da própolis mostraram basicamente a presença de tricomas tectores e glandulares de *B. dracunculifolia*, apesar da existência no local de *V. rubriramea*. Este fato, por si só, já mostra que existe uma certa preferência das abelhas em coletar própolis de alecrim quando esta espécie está disponível. Sugere, também, ser esta a principal espécie vegetal no fornecimento de resinas para a produção da própolis verde de Itapecerica.

Também pode-se observar que uma das colônias cuja matriz havia sido selecionada em Virginópolis, para produção de própolis preta produziu, durante os três meses, quando testada tanto em Itapecerica quanto em Virginópolis, própolis verde, com a presença quase absoluta de tricomas glandulares e tectores de *B. dracunculifolia* no sedimento sólido da própolis. Outra colônia, também selecionada em Virginópolis produziu, durante um dos meses e nas duas localidades, uma própolis de coloração marrom e de maleabilidade pegajosa, que apresentava fragmentos de *B. dracunculifolia* e *V. rubriramea*, composição esta que poderia explicar a variação na cor.

Estes resultados obtidos mostram que a segunda hipótese também tem alguma importância, ou seja, parecem existir fatores genéticos que influenciam as abelhas no comportamento de forrageamento da própolis, no que diz respeito à preferência por uma ou outra espécie de planta, podendo inclusive ser sugeridos estudos visando o melhoramento genético de abelhas para a produção de própolis verde em regiões onde haja escassez de *B. dracunculifolia*. Parece que algumas linhagens de abelhas, em condições de escassez de *B. dracunculifolia*, são capazes de procurar mais eficientemente por esta espécie vegetal, mesmo que ocorram, com relativa abundância, outras espécies fornecedoras de resinas para a elaboração da própolis.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que as linhagens de abelhas originárias de Itapecerica não foram especificamente selecionadas para própolis verde. Naquele local elas coletavam própolis de alecrim possivelmente devido à abundância relativa desta espécie, e por apresentarem uma preferência por esta planta. A variação na cor, observada em setembro (matriz 1), provavelmente foi devida à uma descaracterização desta característica no período de acondicionamento, pois analisando-se as estruturas encontradas na lâmina de estudo, foram observados tricomas glandulares e tectores de *B. dracunculifolia*. Já em Virginópolis, estas mesmas linhagens de abelhas coletaram principalmente própolis de outras fontes, possivelmente, pela escassez de alecrim na região onde o apiário estava instalado.

A hipótese de que as abelhas de Virginópolis poderiam ter sido selecionadas naturalmente para uma composição genotípica que favorecesse a transformação da própolis coletada no campo em própolis preta, através de algum tipo de sistema enzimático pode ser descartada, uma vez que em Virginópolis elas produziram propolis preta, mas quando colônias geneticamente semelhantes foram levadas para Itapecerica, lá elas passaram a produzir própolis verde, mostrando que não existe qualquer sistema enzimático que possa ter sido selecionado nesta população para produzir própolis preta.

Apesar deste trabalho não permitir fazer avaliação genética sobre a herdabilidade deste caráter, pode-se sugerir que sejam feitos estudos

específicos neste sentido, pois, poder-se-ia obter resultados que poderiam ter aplicação interessante para a atividade apícola, para caso a de a própolis preta apresentar uma atividade biológica semelhante ou distinta da própolis verde e, que estimule a sua produção.

Concluindo-se, que a flora propolinífera do local onde é produzida a própolis é muito importante na determinação da cor e, conseqüentemente, da composição química da própolis, mas que fatores das abelhas também podem contribuir, através da determinação da preferência de coleta por uma determinada planta propolinífera. Os resultados nos mostraram que as abelhas preferem coletar própolis de alecrim (*Baccharis dracunculifolia*) quando esta planta ocorre e, de outras espécies quando esta é escassa.

A razão da cor preta da própolis, não pode ser definida, mas existe a possibilidade de que *Vernonia*, que ocorre no local, esteja contribuindo para esta cor da própolis, haja vista que ela é laticífera. Segundo FAHN (1974) e DELL e McCOMB (1978), o látex é uma emulsão coloidal de substâncias insolúveis em água, contendo terpenóides, proteínas, óleos essenciais, mucilagem, entre outros componentes. Alguns destes componentes do látex poderiam ser responsáveis pela natureza viscosa da própolis preta e alguns deles serem oxidados na manipulação pelas abelhas tornando a própolis preta. Estes aspectos precisam ser mais bem estudados para tentar encontrar uma explicação mais fundamentada para a cor preta e a natureza viscosa da própolis de Virginópolis.

Quanto à influência do local, poder-se-ia pensar além da composição da flora propolinífera da região também nos efeitos climáticos, no entanto, as exceções observadas, como aquela colônia cuja rainha era filha de uma matriz selecionada em Virginópolis-MG para própolis preta e passou a produzir própolis verde no seu local de origem, parecem indicar que o fator climático não interaja diretamente com o fator cor da própolis, talvez possa interagir com a abundância das espécies propoliníferas, como age com a distribuição de outras plantas.

## 5.2. Evidência da origem da própolis pela análise de estruturas vegetais presentes no resíduo insolúvel

Segundo técnica desenvolvida por WARAKOMSKA e MACIEJEWICZ (1992) foi possível identificar pelos tectores e glandulares das espécies vegetais presentes na própolis, e analisá-los microscopicamente. Através desta técnica pode-se tentar detectar a origem botânica da própolis, haja vista que entre estes resíduos, pode ser observado fragmentos que pela sua morfologia e tipos de células específicas presentes, podem ser utilizados na identificação da espécie.

As duas espécies vegetais coletadas nas regiões estudadas, *Baccharis dracunculifolia* e *Vernonia rubriramea*, pertencem à família Asteracea. Os representantes desta família apresentam estruturas secretoras que podem ser utilizados como bons caracteres taxonômicos (CASTRO, 1987; MEIRA, 1991; CLARO, 1994; CASTRO, 1997). Segundo o autor, o gênero *Baccharis* apresenta ductos secretores, cuja presença é constante, os quais estão associados ou próximos ao floema. Já em *Vernonia*, não existem estes ductos. Os idioblastos, cuja presença ou ausência, bem com a sua posição na folha, bem como o tipo de tricoma, é que adquirem importante caráter taxonômico.

Uma das estruturas que pode estar presente são os pêlos tectores e glandulares presentes nas folhas de plantas. Segundo HUNTER e AUSTIN (1967), estas estruturas são muito importantes e podem ser utilizadas inclusive como um caráter taxonômico para identificação de algumas espécies, tendo sido inclusive utilizado pelo autor para ajudar a definir que uma determinada espécie de *Vernonia* era na realidade um híbrido de duas outras espécies.

Na própolis verde de Itapecerica, pode-se observar que as estruturas vegetais presentes (pêlos tectores, glandulares, ápices foliares e outros fragmentos) no resíduo insolúvel são quase que totalmente originárias de *Baccharis dracunculifolia*. Resultado semelhante a este também foi observado por OLIVEIRA e BASTOS (1999) estudando própolis de Jaboticatubas-MG. Os resultados obtidos nestes dois trabalhos mostram que em certos casos a estrutura vegetal encontrada pode ser um fator importante

para indicar a origem e composição da própolis, quando há predominância de estruturas de uma determinada espécie, como ocorrido nestas duas localidades. Já no caso de Virginópolis, foram encontradas estruturas vegetais de *Baccharis dracunculifolia* e de *Vernonia rubriramea*, entre outras não identificadas, mostrando uma maior complexidade. Neste caso, pode-se determinar a origem parcial da própolis.

Sob a ótica da análise acima, pode-se então fazer uma avaliação, principalmente, qualitativa da origem da própolis. Tentativa de análise com parâmetros quantitativos destas estruturas mostraram uma imprecisão muito grande que dificulta qualquer interpretação sob a contribuição relativa de cada espécie na composição da própolis.

Uma das dificuldades observadas neste tipo de análise quantitativa foi o fato de haverem inúmeros tricomas tectores e glandulares, onde o adensamento do sedimento dos fragmentos pode atingir mais de um plano de visualização na lâmina, dificultando a contagem tanto em um censo como em caso de estimativa com campos aleatórios.

Para tricomas tectores existe a possibilidade de superestimar a contagem, pois, estes quando são longos (pluricelulares), como na espécie de *V. rubriramea* encontrada, podem se fragmentar facilmente, quase sempre em várias partes, as quais podem se espalhar e serem contadas mais de uma vez como se fossem vários tricomas. Para *Baccharis* foi observado que geralmente a célula apical pode ser despreendida, porém, a parte basal do tricoma, parece ter-se mantido íntegra na sua quase totalidade. Os tricomas glandulares de *Baccharis* geralmente se desprendem da epiderme e podem ser contados. No entanto, fragmentos de folha puderam ser observados com cortes em posições muito interessantes e perfeitos, mostrando inúmeros tricomas glandulares e também tectores. Estes fragmentos podem levar também a uma sub ou superestimação destes tricomas, pois, o número dos fragmentos é bastante variável nas diferentes amostras. Uma lâmina com muitos fragmentos poderia ter um número menor de tricomas soltos ou desprendidos e uma outra lâmina com poucos fragmentos poderia ter um número muito grande de tricomas soltos, levando a erros na avaliação desta estrutura.

Portanto, se a linhagem da abelha em análise tiver habilidade maior para cortar pedaços de folha (fragmento) mais abundantemente, isto poderia levar a uma sub estimativa dos tricomas e ao contrário se esta linhagem macerasse mais os fragmentos, poder-se-ia ter uma super avaliação. DELL e McCOMB (1978) também citam que entre espécies diferentes da planta podem ocorrer diferenças quanto ao número de tricomas, portanto, se a abelha está coletando, em uma região, um determinado espécime e, em uma outra, espécie diferente que apresente maior número de tricomas, também poder-se-ia chegar a resultados diferentes sobre a composição relativa de plantas propoliníferas nestas amostras.

Por sua vez, a análise dos dados quantitativos, mostrou através da análise de variância pelo programa SAS, coeficientes de variação altíssimos, variando de 82 a 281%, demonstrando se tratar de variáveis muito instáveis, possivelmente em função dos fatores discutidos anteriormente, ou seja, fatores não controlados (SAMPAIO, 1998).

Se os pêlos glandulares são importantes na composição química da própolis, ou seja, se existe uma correlação entre o número de pelos glandulares e, por exemplo, a quantidade de flavonóides na amostra, a contagem dos mesmos poderia ser importante para se inferir quantitativamente sobre a composição química daquela própolis. No entanto, os mesmos problemas com a presença de um número maior, ou menor, de fragmentos na amostra poderia afetar esta avaliação. O desenvolvimento de uma técnica mais precisa deveria ser estimulada.

### **5.3. Relação inseto-planta na atratividade para coleta e uso de própolis**

Não se sabe exatamente qual seria a atratividade que estaria sendo exercida no processo de forrageamento seletivo de resinas vegetais realizado pelas abelhas. Provavelmente, uma ação semioquímica estivesse atuando. Compostos secundários das plantas propoliníferas produzidos, segundo DELL e McCOMB (1978), provavelmente com a função de defesa contra o ataque de insetos fitófagos, que estariam causando injúrias em seus tecidos, poderiam estar funcionando como um elemento de atração para as abelhas coletoras de própolis. Estas abelhas ao coletarem a própolis

na planta causam injúrias à mesma. Logo, estes compostos não teriam sido desenvolvidos com a função atrativa para as abelhas. Exemplos na literatura envolvendo relações inseto planta como este são descritos (HARBORNE, 1982; PRICE, 1997).

Santos (1996) verificou que as abelhas coletam a própolis quando o sol está pleno e nos horários mais quentes do dia. Também observou que um numero maior de abelhas coletava própolis em períodos do ano em que a temperatura era maior. Estes fatores poderiam estar relacionados com uma maior volatilização destes produtos secundários da planta, que estariam por sua vez atraindo mais as abelhas nestas condições.

Este mecanismo de atração teria sido evoluído concomitantemente com os mecanismos de defesa da colônia? Ou as abelhas coletam esta própolis de forma aleatória, como o faz em alguns casos, como citado por KONIG (1985), quando observou que as abelhas, na escassez de recursos, são capazes de coletar outros materiais substitutos da própolis como tintas, asfalto e óleos minerais.

Estas relações são muito interessantes e podem estar bastante relacionadas com a preferência demonstrada pelas abelhas *Apis mellifera* coletando própolis de *Baccharis* na região de Itapeçerica apesar da ocorrência de *Vernonia* na região. Na escassez do primeiro, parece que a abelha passou a coletar o segundo e outras fontes existentes na região de Virginópolis-MG. Uma das ações primárias da própolis seria a defesa da colônia contra microrganismos, ou mesmo organismos maiores, através da ação antimicrobiana. Mas a própolis também tem a função de proteção física da colônia, fechando aberturas desnecessárias. Na ausência de uma própolis mais adequada, a abelha seria, neste caso, capaz de usar fontes que não tem qualquer ação antimicrobiana, como aquelas citadas por KONIG (1985), ou seja, asfalto, tintas e óleos minerais.

Portanto, os mecanismos que atuam na escolha da fonte de própolis e sua função dentro da colônia, incluindo aí as interações inseto-planta, são muito interessantes e deveriam ser mais bem estudados.

## 6. CONCLUSÕES

O presente trabalho teve com objetivo analisar a origem botânica das própolis verde, produzida no município de Itapecerica-MG e a própolis escura, no município de Virginópolis-MG.

Foram identificadas as espécies vegetais presentes nas amostras de própolis, através do estudo anatômico das estruturas secretoras encontradas no sedimento sólido dessas amostras. A presença de estruturas secretoras de resinas nas amostras de própolis analisadas indica que as abelhas utilizam resinas vegetais para a elaboração da própolis, e, conforme a análise dos resultados, dependendo das espécies vegetais presentes, as secreções dos vegetais influenciam as características organolépticas da própolis.

*Baccharis dracunculifolia* está relacionada com a cor verde da própolis produzida em Itapecerica, pois há predominância de tricomas secretores desta espécie, em relação a todas as demais espécies, no sedimento sólido analisado.

A presença de estruturas secretoras de *Vernonia rubriramea* está ligada à produção de própolis preta em Virginópolis. Entretanto, a presença de fragmentos de tecidos de *Pinus* (traqueídeos), indica que as abelhas coletaram resinas desta espécie, o que poderia, também, estar influenciando a cor e as demais características organolépticas da própolis.

A cor da própolis produzida por *Apis mellifera* depende da vegetação que a originou.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, J.A.S. Amargando a clandestinidade - Grupo temático de apicultura. **Agroanalysis**, v.17, p.32-33, 1997.
- AMOROS, M., SAUVAGER, F., GUIRRE, L., CORMIER, M. In vitro antiviral activity of própolis. **Apidologie**, v.23, p.231-240, 1992a.
- AMOROS, M., SIMÕES, C.M.O., GUIRRE, F., SAUVAGER, CORMIER, M. Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. **Journal Nat. Products**, v.55, p.1732, 1992b.
- ASIS, M. Propoleo. **El oro purpura de las abejas. Centro de Información y Documentación Agropecuario**. Havana, Cuba. 255p. 1989.
- BANKOVA, V., De CASTRO, S. L., MARCUCCI, M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v.31, p.3-15, 2000.
- BANKOVA, V., BOUDOUROVA-KRASTEVA, G.G., SFORCIN, J.M., FRETE, X., KUJUNGIEV, A., MAIMONI-RODELLA, R., POPOV, S. Phytochemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis from São Paulo State. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v.54, p.401-405, 1999.
- BANKOVA, V., BOUDOUROVA-KRASTEVA, G., POPOV, S., SFORCIN, J. M., FUNARI, S.R.C. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian Propolis. **Apidologie**, v.29, p.361-367, 1998.
- BANKOVA, V., MARCUCCI, M.C., SIMANOVA, S., NIKOLOVA, N., KUJUNGIEV, A. Antibacterial dipentenic acids from brazilian propolis. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v.50, p.167-172, 1996.

- BANKOVA, V., CHRISTOV, R., KUJUNGIEV, A., MARCUCCI, M.C., POPOV, S. Chemical composition and antibacterial activity of brazilian propolis. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v.51, 1995.
- BANSKOTA, A.H., TEZUKA, Y, PRASAIN, J.K., MATSUSHIGE, K., SAIKI, I., KADOTA, S. Chemical constituents of brazilian propolis and their citotoxic activities. **J. Nat. Prod.**, v.61, p.896-900, 1998.
- BASNET, P., MATSUSHIGE, K., HASE, K., KADOTA, S., NAMBA, T. Four di-O-caffeoyl quinic acid derivates from propolis. Potent hepatoprotective activity in experimental liver injury models. **Bio. Pharm. Bull.**, v.19, n.11, p.1479-1484, 1996.
- BONVEHÍ, J.S., COLL, F.V. Phenolic composition of propolis from China and South America. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v.49, p.712-718, 1994a.
- BONVEHÍ, J.S., COLL F.V., JORDA, R.E. The composition, activitie components and bacteriostact activity of propolis in dietetic. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v.71, p.529-532, 1994b.
- BURDOCK, A.G. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v.36, p.347-363, 1988.
- CARLQUIST, S. Structure and ontogeny of glandular trichomes of *Madinæ* (Compositae). **Amer. J. Bot.**, v.45, p.675-682, 1958.
- CASTRO, M.M. **Estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae: aspectos estruturais e histoquímicos**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 1987. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 1987.
- CHENG, P.C., WONG, G. Honey bee propolis: prospects in medicine. **Bee World**, v.77, n.1, p.8-15, 1996.
- CLARO, S.M.C.A. Levantamento de tipos de estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae de uma vegetação de restinga. **Resumos XLII Congresso Nacional de Botânica**, Goiânia, p.68, 1991.
- CRANE, E. **Bees and beekeeping, science, practice, and world resources**. New York: Cornell University Press, 614 p. 1990
- DELL, McCOMB. Plant resins- their formation, secretion and possible functions. **Advances in Botanical Research**, v.6, p.278-312, 1978.
- ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2.ed., New York: John Wiley & Sons Inc., 1977.

- FANH, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press, 1979. 302p.
- FANH, A. **Plant anatomy**. 3.ed., Oxford: Pergamon Press, 1982.
- FANH, A. Secretory tissues and factors influencing their developement. **Phyton**, v.28, n.1, p.13-26, 1988.
- FUEYO, G.M. del. Ontogenia de las glandulas foliares e involucrales de *Tagetes minuta* (Compositae). **Bol. Soc. Argent. Bot.**, v.24, p.403-410, 1986.
- GHISALBERTI, E.L. Propolis: a review. **Bee World**, v.60, p.59-84, 1979.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.
- JÉANNE, F. La propolis et as récolte par l'apiculteur. **Bul. Tech. Apic.**, v.11, p.1, p.45-52, 1984.
- HARBONE, J.B. **Introduction to ecological biochemistry**. 2.ed. 277p.
- HUNTER, G.E., AUSTIN, D.F. Evidence from trichome morphologi of interespecific hybridization in vernonia: COMPOSITAE. **Brittonia**, v.19, p.38-41, 1967.
- IKENO, K., IKENO, T., MIYAZAWA, C. Effect of propolis on dental caries in rats. **Caries Research**, v.25, p.347-351, 1991.
- KONIG, B. Plant sources of propolis. **Bee World**, v.66, n.4, p.136-139, 1985.
- KOO, M.H., PARK, Y.K. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.61, n.2, p.367-369, 1997.
- MARCUCCI, M.C. Chemical composition, plant origin and biological activity of brazilian propolis. **Phytochemistry**, v.2, p.234-237, 1999.
- MARCUCCI, M.C. Controle de qualidade de própolis. **Mensagem Doce**, n.48, p.18-19, 1998.
- MARCUCCI, M.C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v.19, n.5, p.529-536, 1996.
- MARCUCCI, M.C. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v.26, p.83-99, 1995.

- MATSUSHIG, K., KUSUMOTO, T., YAMAMOTO, Y., KADOTA, S., NAMBA, T. Quality evaluation of propolis. 1. A comparative study on radical scavenging effects of propolis and *Vespa Nidus*. **Journal of Traditional Medicines**, v.12, p.45-53, 1995.
- MATSUSHIGE, K., BASNET, P., HASE, K., KADOTA, S., TANAKA, K., NAMBA, T. Propolis protects pancreatic  $\beta$ -cells against the toxicity of streptozotocin (STZ). **Phytomedicine**, v.3, p.203-209, 1996.
- MATSUNO, T. A new cleridane diterpenoid isolated from propolis. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v.50, p.1037-1039, 1995.
- MATSUNO, T., CHEN, C., BASNET, P. A tumouricidal and antioxidant compound isolated from an aqueous extract of propolis. **Med. Sci. Res.**, v.25, p.583-584, 1997.
- MIRZOEVA, O.K., GRISHANIN, R.N., CALDER, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiological Research**, v.152, p.239-246, 1997.
- MOBUS, B. The importance of propolis to honey bee. **Brit. Bee J.**, v.19, n.8, p.198-199, 1972.
- MONTEIRO, W.R. **Estruturas secretoras da folha de *Porophyllum lanceolatum* DC. (Asteraceae): estudos morfológicos, histoquímicos e ultra-estruturais**. São Paulo: Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1986. Tese (Livre Docência) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1986.
- OLIVEIRA, V.C., BASTOS, E.M. Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (ASTERACEAE) visando a identificação da origem botânica da própolis. **Acta bot. Bras.**, v.12, n.3, p.431-439, 1999 (Suplemento).
- PARK, Y.K., KOO, M.H., IKEGATI, M., CONTADO, J. L. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.40, n.1, p.97-106, 1997.
- PARK, Y.K., KOO, M.H., SATO, H.H., CONTADO, J.L. Survey of components of propolis which were collected by *Apis mellifera* in Brazil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.38, n.4, p.1253-1259, 1995.
- POPRAVKO, S.A. Plant sources of propolis. **Phelovodstvo**, v.96, n.7, p.38-41, 1989.
- PRICE, P.W.M. **Insect ecology**. 3.ed. 1997. 874p.
- PYYKKO, M. The leaf anatomy of east Patagonian xeromorphic plants. **Ann. Bot. Fenn.**, v.3, p.453-622, 1966.

- ROUBICK, D.W. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 514p.
- SANTOS, M.A. **Estudo do forrageamento de própolis em abelhas africanizadas *Apis mellifera* L.** Viçosa-MG: UFV, 1996. 59p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, 1996.
- SANTOS, M.A., MESSAGE, D. Comportamento de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L) na coleta e manipulação de própolis em colônias de observação e em alecrim (*Baccharis dracunculifolia* DC). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16, 1997. Salvador-BA. **Anais...** Salvador-BA: SBE. 1997.
- SANTOS, V.R. Própolis: antibiótico natural alternativo em odontologia? (Revisão de Literatura). **Revista do CROMG**, n.3, v.5, p.192-195, 1999.
- SCHMIDT, J.O., BUCHMANN, S.L. Others products of the hive. In: **The Hive and the Honey Bee**, p.927-988, 1992.
- SMITH, F.H., SMITH, E.C. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. **Amer. J. Bot.**, v.29, p.464-471, 1942.
- SCHNEPF, E. Gland cells. In: ROBARDS, A.W. (Ed.) **Dynamic aspects of plant ultrastructure**. Maidenhead: McGraw-Hill, p.331-357, 1974.
- TATEFUGI, T., NOBORU, I., OHTA, T., ARAI, S., IKEDA, M., KURIMOTO, M. Isolation and identification of compounds from brazilian propolis which enhance macrophage spreading and mobility. **Biol. Pharm. Bull.**, v.19, n.7, p.966-970, 1996.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.A., GARCIA-VIGUERA, C. VIT-OLIVIER, P., FERRERES, F., TOMÁS-LORENTE, F. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela. *Phytochemistry*. v.34, n.1, p.191-196, 1993.
- TOMÁS-BARBERAN, F.A., FERRERES, F., VALBUENA, A.O., MAESO, M.C.F. **Estudio sobre el contenido en flavonoides de las mieles de La Alcarria: su aplicación a la caracterización geográfica-botánica**. Murcia: Consejería de Agricultura y Medio Ambiente. 1994. 38p.
- VANHAELE, M., VANHAELEN-FASTRÉ, R. Própolis - I. Origine, micrographie, composition chimique et activité thérapeutique. **Journal de Pharmacie de Belgique**, v.34, n.5, p.252-259, 1979.
- WARAKONSKA, Z., MACIEJEWICZ, W. Microscopic analysis of Propolis from polish regions. **Apidologie**, v.23, p.277-283, 1992.
- WOISKY, R.J., GIESBRECHT, A.M., SALATINO, A. Atividade antibacteriana de uma formulação preparada a partir de própolis de *Apis mellifera* L. **Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo**, v.30, p.19-21, 1994.