

ANÁLISE POLÍNICA DE ALGUMAS AMOSTRAS DE PRÓPOLIS DO BRASIL MERIDIONAL¹

POLLEN ANALYSIS OF SOME SAMPLES OF PROPOLIS FROM SOUTHERN BRAZIL

Ortrud Monika Barth² Vânia Maria Limeira Dutra³ Ronaldo Lauria Justo³

RESUMO

Foi analisado o espectro polínico de treze amostras de própolis, oito provenientes do estado do Rio de Janeiro, duas de Minas Gerais, uma do Rio Grande do Sul e uma de São Paulo. A metodologia empregada para a extração de pólen de própolis, bem como a concentração em pólen visando a estudos morfológicos para a identificação de grupos taxonômicos, é proposta como padrão para análise polínica de própolis. Foram identificados, através da morfologia polínica, famílias e gêneros botânicos que caracterizam as regiões geográficas de coleta da própolis, e também o habitat de mata, capoeira, campo e culturas. Os táxons vegetais encontrados com maior frequência foram: *Eucalyptus*, *Compositae* (principalmente o tipo polínico *Eupatorium*) e *Cecropia*. Este último gênero, juntamente com *Ambrosia*, *Piper* e *Brosimum*, constituíram o pólen anemófilo mais representativo nas amostras analisadas. Tendo uma estação de florada bem demarcada, o pólen de *Mimosa caesalpiniaefolia* e *Citrus* pode ser referencial para o período sazonal de coleta de própolis.

Palavras-chave: própolis, pólen, *melissopalynologia*.

SUMMARY

The pollen spectra of thirteen samples of propolis, eight collected in the state of Rio de Janeiro, two in Minas Gerais, one in Rio Grande do Sul and one in São Paulo, Brazil, were analyzed. The methodology applied for extraction of pollen grains from propolis is proposed as a standard, in regard to pollen concentration and pollen morphology analysis. Plant families and genera were identified by pollen morphology; they characterize the geographical regions where propolis was obtained, as well as the habitat of forest, "capoeira" (arboreal savanna), fields and crops. The most frequent plant taxa determined were *Eucalyptus*, *Compositae* (mainly the *Eupatorium* pollen type) and *Cecropia*. This last genus, together with *Ambrosia*, *Piper* and *Brosimum* were the most common anemophilous pollen in our studied samples. *Mimosa*

caesalpiniaefolia and *Citrus* have a well defined flowering period and may be considered as a seasonal source of propolis.

Key words: propolis, pollen, *melissopalynology*.

INTRODUÇÃO

As abelhas, visando ao seu ambiente vital dentro das colmeias, num estado social populoso e muito evoluído, preparam uma substância chamada própolis, que tem como função principal a vedação de fendas e frestas. É um produto proveniente em primeira instância de exsudações vegetais, tais como resinas e líquidos secretados durante o desenvolvimento inicial de botões foliares e florais. A estas substâncias, recolhidas pelas abelhas, é adicionada cera para que a mistura se torne moldável. Durante este processo de retrabalhamento, as abelhas acrescentam secreções de suas glândulas da cabeça, conferindo um valor medicinal ao produto final.

Utilizada há longo tempo na medicina caseira, o conhecimento da composição química da própolis foi resultado de estudos e pesquisas apresentados em trabalhos científicos (BANKOVA *et al.*, 1983). Sua propriedade mais conhecida é a antibacteriana (GRANGE & DAVEY, 1990). Ensaio antivirais (KÖNIG & DUSTMANN, 1988) mostram que, ao menos em algumas ocasiões, há uma queda sensível do título do vírus pela aplicação de própolis. Estas propriedades dependem da origem botânica da própolis, implicando maior ou menor valorização comercial.

¹Trabalho executado com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

²Biólogo, Doutor em História Natural, Pesquisador titular sênior. Laboratório de Palinologia, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CCS, Bloco A, Sala 118, Ilha do Fundão, 21949-900, Rio de Janeiro. E-mail: palino@igeo.ufrj.br. Autor para correspondência.

³Biólogo. Laboratório de Palinologia, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UFRJ.

Recebido para publicação em 13.03.98. Aprovado em 03.03.99

A fim de concentrar os resíduos insolúveis de própolis, várias técnicas de extração tem sido empregadas. D'ALBORE (1979) obteve bons resultados usando uma mistura em partes iguais de etanol, clorofórmio e acetona; já WARAKOMSKA & MACIEJEWICZ (1992) usaram uma extração sequencial com etanol, benzeno e acetona. Após a extração de cera e resina, encontra-se frequentemente grande quantidade de pêlos vegetais (tricommas) nas amostras de própolis (WARAKOMSKA & MACIEJEWICZ, 1992), os quais podem ser indicadores da procedência botânica de própolis (THEOBALD *et al.*, 1979).

Outro componente de própolis, compreendendo cerca de 5% de seu peso, é o pólen (WARAKOMSKA & MACIEJEWICZ, 1992). Seu aparecimento neste composto tem diversas origens. Pode ser trazido pelo vento, aderindo à resina das exsudações vegetais. Pode também entrar na confecção da própolis como contaminante, colhido em separado pelas abelhas para armazenamento dentro da colmeia. O terceiro modo de entrada de pólen na fabricação de própolis tem origem no pólen aderido ao corpo das abelhas durante os seus trabalhos de campo e nas colméias.

A identificação de táxons vegetais através da morfologia de seus grãos de pólen, permite a inferência, através de associações polínicas, sobre o tipo de vegetação de onde foi recolhida a própolis. Uma análise global da caracterização geográfica através de análises palinológicas de própolis de vários países e diversos continentes foi realizada por D'ALBORE (1979). Entre as amostras analisadas, três eram do Brasil. Segundo seus resultados, é possível definir, salvo em poucos casos, a origem geográfica de uma própolis, baseando-se no respectivo espectro polínico.

O objetivo deste trabalho é apresentar uma metodologia padrão para o preparo de própolis visando a estudos palinológicos, bem como caracterizar amostras de própolis provenientes de diferentes regiões geográficas do Brasil, através da morfologia polínica.

MATERIAL E MÉTODOS

Treze amostragens de própolis foram obtidas diretamente de apicultores de quatro estados do Brasil. A época do ano de coleta destas amostras é desconhecida. No estado do Rio de Janeiro, as oito amostras foram colhidas em regiões situadas próximas à capital, isto é, regiões urbanas, bem como em áreas de pastagem, de mata Atlântica e de vegetação secundária. As duas amostras de Minas Gerais eram provenientes de regiões com vegetação aberta; a do

estado do Rio Grande do Sul não teve indicação sobre a vegetação onde foi colhida e a de São Paulo é procedente de uma área agrícola (tabela 1). Todas as amostras permaneceram guardadas a -20°C.

A obtenção de pólen foi iniciada pela extração de 0,5 gramas de própolis, limpa e selecionada, com 15ml de álcool absoluto durante pelo menos 24 horas. O sedimento obtido após a centrifugação foi fervido durante 2 minutos em KOH a 10% em banho-maria, lavado em água destilada, filtrado, permanecendo em ácido acético glacial durante uma noite. Em seguida, foi submetido à mistura de acetólise (oxidação do sedimento numa mistura 9:1 de anidrido acético e ácido sulfúrico em banho-maria até alcançar a temperatura de 80°C por cerca de três minutos). Após cuidadosa lavagem em água e em água-glicerizada, preparou-se o sedimento sobre duas lâminas de microscopia em gelatina-glicerizada, com ou sem corante (fucsina básica), vedando-se com parafina. Para a observação de pêlos vegetais preparou-se uma lâmina do sedimento antes da aplicação da mistura de acetólise. Havendo formação de grumos nos sedimentos, aplicou-se ultrassom por alguns minutos antes da acetólise. Estas preparações são permanentes e se mantêm inalteradas por vários anos. Sobras dos sedimentos processados podem ser estocadas em glicerol puro, à temperatura ambiente.

A contagem ideal de números de grãos de pólen por amostra é de 300 grãos ou mais. Entretanto, ao ser atingido previamente o ponto de saturação, isto é, quando nenhum novo tipo polínico foi encontrado, ou quando se encontrou pólen somente na quantidade inferior a 0,1%, a contagem era encerrada. Em alguns casos, foram contados mais de 500 grãos. A avaliação percentual dos tipos polínicos apoiou-se na proposta de LOUVEAUX *et al.* (1970) para amostras de mel. As interpretações foram baseadas em dados da literatura quanto à sub e super representação de tipos polínicos, isto é, quanto à produção de pólen pelas espécies vegetais (BARTH, 1989).

Uma grande diversidade de tipos polínicos foi encontrada durante a análise microscópica das amostras de própolis. A fim de avaliar sua importância em função da procedência geográfica das amostras, aplicou-se o mesmo critério percentual usado no estudo do sedimento de amostras de mel (BARTH, 1989); embora uma avaliação quantitativa esteja fora de qualquer parâmetro de avaliação das contagens, ela subsidia as informações qualitativas (tabela 1). Por isso, seis amostras de própolis foram processadas independentemente duas vezes. Os resultados obtidos coincidiram para a maioria das amostras.

Montanoa e *Vernonia* (Compositae), entre outros. Espécies vegetais representadas por menos de 3% do total de grãos de pólen contados não foram incluídas na tabela 1.

Os pêlos vegetais encontrados nas amostras de própolis analisadas pertencem a somente dois tipos morfológicos: um tipo de pêlo longo e simples, o outro é formado por um pedúnculo sustentando um conjunto de aproximadamente oito células em formato globuloso. Segundo as ilustrações de THEOBALD *et al.* (1979), a morfologia do primeiro tipo tem correspondente em *Boronia* (Rutaceae) e o segundo, em *Inga* (Leguminosae-Mimosoideae).

Durante a análise palinológica das amostras de própolis estudadas, salientou-se uma quantidade representativa de grãos de pólen procedentes de plantas anemófilas (tabela 1). Este mesmo fato não pôde ser constatado por D'ALBORE (1979) ao examinar o sedimento de três amostragens de própolis provenientes do Brasil; estas amostras apresentavam como pólen característico os tipos polínicos *Mimosa scabrella*, *Roupala*, *Ilex*, *Lythrea*, *Palmae* e *Vernonia*, sendo que os quatro primeiros são característicos da região sul do Brasil. Comparando estes dados com a nossa amostra, proveniente do estado do Rio Grande do Sul, destaca-se a baixa frequência de pólen anemófilo. Na maioria das amostras, foi identificado o pólen anemófilo de *Cecropia*, em duas do estado de Minas Gerais e três do estado do Rio de Janeiro na quantidade de pólen acessório. Outras espécies anemófilas (tabela 1) estavam também representadas por quantidades variáveis de grãos de pólen.

Quanto às espécies entomófilas quantitativamente melhor representadas, salientam-se os tipos polínicos *Eucalyptus* e *Eupatorium* para todas as regiões estudadas, em quantidade variável desde dominante até isolada (tabela 1). Cada um destes tipos polínicos representa, provavelmente, mais de uma espécie botânica, cujos grãos de pólen são morfológicamente indistinguíveis. São importantes indicadores na caracterização ambiental da região de coleta de própolis, florestal ou de áreas cultivadas no primeiro caso e de áreas ruderais no segundo.

O espectro polínico dominado por *Citrus* e *Eucalyptus* na amostra de própolis procedente do estado de São Paulo reflete nitidamente o mais importante pasto das abelhas desta região; o mesmo dado foi encontrado para numerosas amostras de mel analisadas (BARTH & CORÉ-GUEDES, sd).

O pólen de *Coffea* foi detectado apenas em amostras provenientes do estado de Minas Gerais. Esta observação corresponde, portanto, à presença de cafezais neste estado.

Próximo à cidade do Rio de Janeiro, em lugares brejosos e úmidos, encontram-se amplamente distribuídos os arbustos lenhosos e poliníferos de *Mimosa caesalpiniaefolia*, vulgarmente chamados de maricá, florescendo regularmente no mês de fevereiro. Em uma das amostras de própolis estudada (tabela 1), este tipo polínico apresenta-se em quantidade de pólen dominante, de modo que se pode afirmar que esta amostra de própolis foi elaborada pelas abelhas nesta época do ano.

Grãos de pólen de espécies arbóreas características de matas ocorreram em quantidade reduzida nas amostras de própolis estudadas (com menos de 1% do total de grãos de pólen). Quando a sua diversidade numa amostra é elevada, pode-se supor uma origem florestal da própolis (por exemplo a amostra 08 do estado do Rio de Janeiro). Entretanto, a maioria das amostras contém pólen de espécies ruderais, de campos, pastos e capoeiras, representantes de áreas mais secas, o que leva a considerar as orlas de matas e capoeiras como regiões propícias à coleta de componentes de própolis para as abelhas.

Baseado na extração de 0,5 g de própolis, variava a quantidade de pólen por amostra (sem apresentação de dados numéricos absolutos no presente estudo). Das treze amostras analisadas (tabela 1), somente uma (amostra 02) continha relativamente poucos grãos de pólen, embora a diversidade de tipos polínicos encontrados fosse alta. Em outra amostra (amostra 06), a quantidade de pólen ainda era restrita, mas nas demais amostras era farta. Essa observação não está relacionada diretamente com a diversidade de tipos polínicos encontrados nas amostras de própolis.

Em conclusão, as análises qualitativas e quantitativas dos tipos polínicos encontrados em amostras de própolis são, portanto, instrumentos utilizáveis para a caracterização geográfica de sua procedência, bem como da origem florística e, em alguns casos, estacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANKOVA, V.S., POPOV, S.S., MAREKOV, N. L. A study on flavonoids of propolis. *Journal of Natural Products*, USA, v. 46, p. 471-474, 1983.
- BARTH, O.M. *O Pólen no mel brasileiro*. Rio de Janeiro: Luxor, 1989. 150 p.
- BARTH, O.M., CORÉ-GUEDES, J. *Caracterização polínica de méis de laranjeiras procedentes dos estados do Rio de Janeiro e de São Paulo*, sd. Manuscrito (não publicado), 24 p.
- D'ALBORE, G.R. L'origine géographique de la propolis. *Apidologie*, Paris, v. 10, p. 241-267, 1979.

- GRANGE, J.M., DAVEY, R.W. Antibacterial properties of propolis (bee glue). **Journal of the Royal Society of Medicine**, Inglaterra, v. 83, p. 159-160, 1990.
- KÖNIG, B., DUSTMANN, J.H. Baumharze, Bienen und antivirale Chemotherapie. **Naturwissenschaftliche Rundschau**, Alemanha, v. 41, p. 43-53, 1988.
- LOUVEAUX, J., MAURIZIO, A., VORWOHL, G. Methodik der Melissopalynologie. **Apidologie**, Paris, v. 1, p. 193-209, 1970.
- THEOBALD, W.L., KRAHULIK, J.L., ROLLINS, R.C. Trichome description and classification. In: METCALF, C.R., CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford: Clarendon, 1979. V. I. p. 40-53.
- WARAKOMSKA, Z., MACIEJEWICZ, W. Microscopic analysis of propolis from Polish regions. **Apidologie**, Paris, v. 23, p. 277-283, 1992.

Ciência Rural, v. 29, n. 4, 1999.