

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

INDICADORES DA ORIGEM BOTÂNICA DA PRÓPOLIS: IMPORTÂNCIA E PERSPECTIVAS¹

ÉRICA WEINSTEIN TEIXEIRA², DEJAIR MESSAGE³, RENATA MARIA STROZI ALVES MEIRA⁴, ANTÔNIO SALATINO⁵

¹ Parte de Tese de Doutorado em Entomologia, Departamento de Biologia Animal, UFV. Recebido para publicação em 18/11/03. Aceito para publicação em 13/06/03.

² Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Caixa postal 07, CEP 12400-970, Pindamonhangaba, SP. E-mail: erica1705@terra.com.br

³ Departamento de Biologia Animal, UFV, CEP 36.571-000, Viçosa, MG.

⁴ Departamento de Biologia Vegetal, UFV, CEP 36.571-000, Viçosa, MG.

⁵ Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, USP, Caixa postal 11461, CEP 05422-970, São Paulo, SP.

RESUMO: O objetivo do presente trabalho foi reunir informações a respeito da origem botânica da própolis originária de países de clima temperado e de clima tropical, demonstrando de que formas esses conhecimentos podem contribuir para o uso racional do produto. Foram enfocados aspectos relacionados às secreções de resinas em estruturas florais, possibilidades e limitações do uso de metabólitos e de estruturas secretoras na identificação da origem botânica da própolis, síntese e alocação de compostos secundários nos vegetais, além da relevância das relações *Apis mellifera* x *Baccharis* spp. (Asteraceae).

Palavras-chave: própolis, origem botânica, *Apis mellifera*.

APPROACHES FOR THE DESCRIPTION OF PROPOLIS PLANT SOURCE: IMPORTANCE AND PERSPECTIVES

ABSTRACT: The present work gathers information regarding the plant origin of propolis produced in countries from temperate and tropical zones of the world. It is the purpose of the paper to demonstrate the utility of such information for the rational use of propolis. The following topics are dealt with in the paper: a) resin secretion by floral structures; b) potentialities and shortcomings of analysis of metabolites and secretory structures in studies about plant origin of propolis; c) synthesis and allocation of secondary metabolites in plants; d) the relevance of the relationships *Apis mellifera* x *Baccharis* spp. (Asteraceae) for propolis production in Brazil.

Key words: propolis, botanical origin, *Apis mellifera*.

INTRODUÇÃO

Comercialmente, a própolis tem ocupado lugar de destaque no mercado nacional e internacional de produtos apícolas. Sua inserção se deve, essencialmente, às inúmeras constatações das diferentes atividades biológicas atribuídas aos seus constituintes químicos. Como consequência, observou-se incremento do valor agregado ao produto, sendo este um dos importantes indicadores que representam a cadeia produtiva da apicultura.

Ilustrando esta afirmação, NORTENBERG (1997) mencionou diferenças da ordem de até 30 vezes nos valores de venda do produto já beneficiado e comercializado no Brasil e no Japão, podendo esta discrepância ser explicada pela sua grande popularidade em países da Europa Oriental e, particularmente, nos asiáticos como Japão, Coreia do Sul e China.

As informações existentes sobre a magnitude do mercado de própolis ainda são pouco precisas. ABREU (1997) estimou que a produção anual de própolis no Brasil era de 115 toneladas, o que representa cerca de R\$ 80,5 milhões. Segundo o autor citou, conforme dados do *Japan Trade Organization* (JETRO), 92% de toda a própolis *in natura* consumida no Japão é de origem brasileira, o que gera faturamento em torno de US\$ 20 milhões por ano às exportações nacionais.

No panorama atual, o Brasil ocupa a posição de terceiro maior produtor mundial, perdendo apenas para a Rússia e para a China (PEREIRA *et al.*, 2002).

Comprova-se a importância do produto não só em termos econômicos, mas principalmente científicos, com centenas de artigos publicados nas últimas décadas. Todavia, segundo constatações de PEREIRA *et al.* (2002), apesar da posição de destaque na produção e comércio da própolis, e de possuir a quinta maior produtividade científica no assunto, a atividade de pesquisa no Brasil não reflete, nem em número nem em conteúdo, o interesse internacional que a própolis brasileira possui, principalmente para os japoneses.

Os estudos, desenvolvidos em praticamente todo o mundo, atribuem à complexidade de sua composição propriedades farmacológicas importantes, considerando alguns compostos isoladamente, ou o

sinergismo existente entre eles. Os resultados indicam atividade de amplo espectro contra diferentes microorganismos (fungos, bactérias, vírus, protozoários etc.) de distintos graus de patogenicidade para o homem e outros animais. Ainda, importantes propriedades biológicas foram comprovadas, como a antioxidante, a citotóxica e a imunomoduladora. Tais resultados encontram-se bem documentados em revisões bibliográficas específicas, como a conduzida recentemente por BANSKOTA *et al.* (2001), na qual são apresentados dados compilados desde os citados por GHISALBERTI (1979) até os dias atuais.

Contudo, a exemplo de muitos outros produtos naturais, falta à própolis garantia de parâmetros essenciais quanto à sua eficácia, segurança e qualidade, de forma a permitir o uso racional do produto. Para tanto, avaliações fitoquímicas e farmacotoxicológicas se fazem necessárias.

HAUSEN *et al.* (1987, 1988) identificaram alguns compostos alergênicos presentes em própolis originária de espécies do gênero *Populus* (Salicaceae), bem como em constituintes presentes em suas gemas foliares (HAUSEN *et al.*, 1992). Recentemente, POPOVA *et al.* (2002) comprovaram que certos compostos presentes em amostras de própolis provenientes de *Myroxylon balsamum* (Fabaceae) apresentam considerável toxicidade. Embora ainda incipientes, alguns trabalhos também vêm sendo desenvolvidos no intuito de se estabelecer dosagens de ingestão diária consideradas seguras (BURDOCK, 1998).

Porém, é imprescindível que tais avaliações sejam efetuadas de forma individualizada, específica e bem fundamentadas quanto à origem das amostras estudadas, tipos de reações produzidas e organismos utilizados.

Ainda, deve-se considerar que a associação da origem botânica aos fatores climáticos do local de produção implicam diferenças marcantes, tanto no aspecto qualitativo como quantitativo da composição química do produto final (GHISALBERTI, 1979, JEANNE, 1984, GREENAWAY *et al.*, 1990, CHENG e WONG, 1996, ASIS, 1991, BANKOVA *et al.*, 1992, GARY, 1993, TOMÁS-BARBERÁN, 1993), dificultando a obtenção de regularidade na eficácia farmacológica do produto.

Conforme discutido por PEREIRA *et al.* (2002), faz-se necessário definir quais parâmetros terapêuticos

mínimos os diferentes tipos de própolis devem possuir, ou idealmente que composição química mínima deveria ser exigida para que apresentem as propriedades farmacológicas desejadas, devendo-se responder a um questionamento antigo: qual própolis serve para qual ação terapêutica?

Neste sentido, uma das etapas primordiais a serem galgadas é a identificação das espécies vegetais que estariam contribuindo como fontes potenciais de compostos bioativos constituintes da própolis. Desta forma, o produto poderia ser considerado não só provedor de modelos de moléculas que apresentem atividades biológicas importantes, mas também como fonte de tais constituintes.

Se por um lado a definição do produto¹ evidencia a complexidade de sua origem e composição, por outro demonstra a importância da utilização de bases científicas e aportes tecnológicos no suporte e orientação de investigações relativas à própolis. Esta afirmação justifica-se pelo caráter multidisciplinar que permeia a pesquisa de biofármacos, havendo envolvimento e complementaridade de conhecimentos advindos de diversas ciências, tais como Farmacologia, Química Orgânica, Botânica, Etnobotânica, Etnofarmacologia, Quimiosistemática, dentre outras (DI STASI, 1996).

Vale ressaltar que, embora as plantas sejam uma fonte importante de produtos biologicamente ativos, os quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos, muitas vezes, a síntese de certos compostos por vias químicas artificiais é tecnicamente inviável, seja pela dificuldade metodológica ou pelo elevado custo que apresentam.

Entretanto, as diversas formas pelas quais tais compostos ficam disponíveis para coleta pelas abelhas, nas diferentes partes dos vegetais, bem como a origem e natureza dos compostos, ainda não estão, em muitos casos, bem determinadas, havendo grande variação entre as espécies vegetais envolvidas.

¹ BRASIL (2001): Entende-se por própolis o produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, coletadas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudatos de plantas, ao qual as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen.

Sabe-se que complexos processos estão envolvidos nas atividades secretoras das plantas e que muitas dúvidas ainda perduram quanto à natureza das substâncias secretadas e suas respectivas localizações nos vegetais.

É fundamental, portanto, a elucidação do significado da presença das estruturas vegetais e dos constituintes químicos presentes na própolis, sugerindo a possibilidade de sua utilização como indicadores da real composição botânica do produto.

CRANE (1990), ao abordar os diversos recursos vegetais utilizados pelas abelhas, chamou a atenção para a ausência de derivação botânica do termo própolis, diferentemente do que ocorre com os termos néctar e pólen, que por si sós indicam produtos de origem vegetal.

O termo própolis é amplamente utilizado em publicações para designar o produto final depositado na colméia pelas abelhas campeiras, cuja alocação final na colônia fica a cargo das abelhas mais jovens que executam tarefas internas. É também usado para descrever a matéria-prima que será utilizada para este fim, já que é comum encontrarmos descritas na literatura expressões como “coleta de própolis”, a qual resume circunstâncias de forrageamento e coleta nas diversas fontes vegetais pelas abelhas.

De acordo com SEELEY (1995), a própolis tem para as abelhas basicamente duas funções: mecânica (por evitar perda de calor por convecção) e química (por garantir a assepsia, principalmente nas regiões de cria), sendo, segundo OGREN (1990), a última considerada a principal. Estas funções explicam a origem grega da palavra *pro* – (à frente de) e *-polis* (cidade).

Ressalte-se que o conhecimento da origem da própolis não é unicamente de interesse acadêmico, pois permite gerar informações dos locais mais adequados para a alocação de colméias destinadas à sua produção. Ainda, a associação deste conhecimento a estudos fitoquímicos específicos possibilitaria a predição da composição aproximada da própolis a ser disponibilizada no mercado, conferindo-lhe certificação de origem, uma vez que sua produção ocorreria em apiários cujas composições florísticas teriam sido previamente avaliadas.

Origem da própolis: Zonas Temperadas x Zonas Tropicais

Em países da Europa, a preocupação com a origem da própolis parece acompanhar os estudiosos da área desde o início do século passado. Embora a dificuldade na aquisição da literatura dessa época e o idioma em que são publicadas sejam uma realidade, dado que em sua maioria os trabalhos são originários de países do leste europeu, GHISALBERTI (1979) apresentou em sua revisão os trabalhos pioneiros com alguns dos principais resultados: Helfenberg (1908) observou que as abelhas coletavam própolis de ramos, folhas e brotos de *Betula* spp. (Betulaceae), *Fraxinus* spp. (Oleaceae), *Ulmus* spp. (Ulmaceae) e árvores de bálsamo. A primeira indicação de que a própolis seria obtida de *Populus nigra* var. *pyramidalis*, família Salicaceae, foi efetuada por Jaubert, em 1926. Posteriormente, Vansell e Bisson (1940) concluíram que também a própolis do oeste dos Estados Unidos era originária de gemas de *Populus nigra*, além de *Alnus viridis* (Betulaceae).

Popravko (1974), citado por KONING (1985), afirmou que espécies de *Populus*² (de nome vulgar choupo ou álamo) constituem-se nas principais fontes de própolis na Europa, sendo *Betula* spp., *Quercus* spp. (Fagaceae), *Alnus* spp., *Salix* spp. (Salicaceae) e *Corylus avellana* (Corylaceae, avelã) de importância secundária. Todavia, na Rússia central, segundo o autor, *Betula* parece predominar em relação à *Populus* como fonte de própolis.

Em publicação posterior, POPRAVKO (1976) descreveu a importância das secreções de gemas de *Betula* (que ocupa grande superfície de bosques de zonas temperadas) para a planta e, provavelmente, também para as abelhas que as coletam. Foi considerada, em suas conclusões, que a natureza das substâncias presentes nas gemas era equivalente àquelas presentes na própolis (basicamente: hexabiterpenos, ácidos aromáticos e flavonóides). Segundo o autor, as secreções das gemas exercem papel essencial no sistema de defesa do vegetal, apresentando notável atividade biológica contra microorganismos fitopatogênicos, como fungos e

vírus. Argumentou-se ainda tratar-se de um gênero de plantas que atua eficientemente em termos de manifestações alelopáticas, inibindo eficientemente o desenvolvimento da flora competidora.

NAGY *et al.* (1985) afirmaram que, na Hungria, as principais fontes de própolis seriam os gêneros *Acacia* (Fabaceae), *Betula* (Betulaceae), *Populus* (Salicaceae), *Pinus* (Pinaceae), *Prunus* (Rosaceae), além de espécies como *Aesculus hypocastane* (Hippocastanaceae), de onde as abelhas fazem coletas em gemas ainda fechadas. GHISALBERTI (1979), concluindo sua revisão, afirmou que a própolis de zonas temperadas advém também de faias (*Fagus*, Fagaceae), de *Aesculus* spp. (Hippocastanaceae) e de coníferas.

Suas informações foram corroboradas por BONVEHÍ e COLL (1994), que indicaram como principais fontes de resinas do Hemisfério Norte: *Aesculus hippocastanum*, *Betula* spp., *Fraxinus* spp., *Picea* spp., *Pinus* spp., *Populus* spp., *Quercus* spp., *Salix* spp. e *Ulmus* spp. Já para as amostras de própolis por eles analisadas e embora não esclarecendo a técnica utilizada, os autores atribuíram a origem do produto na China às seguintes espécies: *Melia azederach*, *Morus* spp., *Populus* spp., *Prunus* spp., *Pyrus* spp., *Salix* spp., *Robinia pseudacacia* L. e *Ulmus* spp.

Entretanto, GREENAWAY *et al.* (1990), ao analisarem própolis e gemas vegetais de diversas espécies provenientes de diversos países, incluindo Áustria, Alemanha, Israel, Reino Unido, Estados Unidos e Equador, afirmaram que, com exceção de amostras do Equador, foram identificados compostos característicos unicamente de gemas de *Populus* spp., além de cera e açúcares agregados posteriormente pelas abelhas. Segundo os autores, os constituintes oriundos de gemas de *Aesculus hippocastanum* e de várias espécies de coníferas têm características próprias, diferentes dos presentes em gemas de *Populus*, não estando presentes em nenhuma das amostras analisadas. Suas análises comprovaram que ocorre preferência de coleta pelas abelhas por algumas espécies do gênero *Populus*. Com exceção do Equador, todas as amostras de própolis analisadas apresentaram constituintes típicos de espécies da seção *Aigeiros* desse gênero (a qual inclui *P. deltoides* e *P. nigra*, juntamente com outras espécies relacionadas à *P. deltoides*, como *P. fremontii*, *P. sargentii* Dode e *P. wislizeni* Sarg.) e de híbridos resultantes de cruzamentos dessas espécies.

²*Populus* - Gênero presente em extensa faixa geográfica, a qual abrange América do Norte, Europa, norte da África e regiões não-tropicais da Ásia, incluindo oeste da China e Coreia (Schmithüsen, 1976, in KONIG, 1985).

KONIG (1985), associando suas avaliações a comunicações pessoais, afirmou que nas ilhas do Havai as principais fontes de própolis são *Plumeria acuminata* e *Plumeria acutifolia* (Apocynaceae), de onde as abelhas coletam matéria-prima dos caules e das gemas, havendo também coleta em *Eucalyptus sideroxylon* (Myrtaceae), originário da Austrália, e de *Psidium guajava* (Myrtaceae) e *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), ambas originárias da América do Sul.

BANKOVA e POPOV (1994) constataram que *Populus nigra* e *Populus canadensis* são as principais fontes de própolis na Albânia, sendo a primeira espécie mais importante e que, possivelmente, constituintes de gemas de *Prunus* spp. também façam parte da composição do produto nesse país. Os autores ressaltaram as diferenças por eles observadas entre a própolis produzida na Bulgária e na Albânia, justificando tal fato em função do clima predominante nos dois países, embora ambos se situem na Península Balcânica.

Vale ressaltar que a espécie *Populus deltoides*, amplamente distribuída na região central e oeste dos Estados Unidos, foi introduzida na Europa no final do século XVIII. A partir de então, ocorreu um processo de livre hibridação com *P. nigra*, cujos produtos passaram a ser designados *Populus x euramericana*. O híbrido encontra-se atualmente espalhado pelo oeste europeu, promovendo variações na composição da própolis, conforme relatado por GARCIA-VIGUERA *et al.* (1992), sendo, segundo o autor, inadequado o raciocínio de que fontes similares (híbridos de uma espécie) produzem própolis de constituições semelhantes.

De maneira geral, nos estudos desenvolvidos em países europeus, incluindo Hungria (PAPAY *et al.*, 1985), Grã-Bretanha (GREENAWAY *et al.*, 1987) e Bulgária (BANKOVA *et al.*, 1992), o gênero *Populus* predomina como fonte de própolis, principalmente *P. nigra*. Já na Mongólia, *P. suaveolens* é a única espécie disponível do gênero para esse fim (BANKOVA *et al.*, 1992).

CHRISTOV *et al.* (1998), ao constatar a complexidade da composição da própolis egípcia, concluiu que, além de *Populus nigra*, presente no local de coleta, outras espécies poderiam participar da composição do produto. Os autores consideraram a influência de clima subtropical e tropical nos resultados obtidos.

NAKAMURA *et al.* (1997) identificaram, por meio de análises cromatográficas, *Populus italica* e *Betula platyphylla* como sendo as principais espécies que originavam a própolis na região de Tóquio, no Japão. Em seus resultados foi constatado ainda que há uma significativa variação ao longo do ano, quanto à quantidade de resina produzida pelas gemas de *P. italica*.

Algumas outras informações compiladas por CRANE (1990), as quais incluem a origem da própolis coletada por *Apis mellifera* encontram-se apresentadas no Quadro 1. Saliente-se que a autora baseou-se em informações da literatura, principalmente de FAHN (1979), ao apresentar o provável tipo de substância coletada em cada fonte vegetal pelas abelhas. Em seu apanhado, embora CRANE (1990) tenha demonstrado certa diversidade de fontes de própolis observadas em países de clima temperado, a autora também concluiu que *Populus* e *Betula* são os gêneros que predominam nessa zona como fonte de material para a produção de própolis.

É possível constatar a escassez de informações obtidas em países tropicais relativas a esta época, tendo sido *Xanthorrhoea* (Juncaceae) indicada como fonte no oeste da Austrália (GHISALBERTI, 1979).

Recentemente, vários estudos têm sido conduzidos na tentativa de se identificar efetivamente a origem da própolis nos trópicos, por meio de diferentes técnicas, sejam elas diretas (observação de coleta no campo) ou indiretas (análise dos constituintes químicos e estruturas anatômicas vegetais presentes ou análises palinológicas).

Sem dúvida, a observação direta de abelhas no campo coletando matéria-prima para a produção de própolis seria a técnica mais adequada e cujos resultados seriam incontestáveis no intuito de gerar informações de fontes vegetais utilizadas para a produção de própolis pelas abelhas.

Outras técnicas, ditas indiretas, têm sido utilizadas, tais como: identificação de constituintes químicos e de estruturas ou fragmentos de tecidos vegetais encontrados na própolis, além de grãos de pólen presentes no resíduo insolúvel do produto.

A diversidade de técnicas empregadas denota as dificuldades existentes na determinação de métodos efetivos que indiquem a real origem do pro

Quadro 1. Origem da própolis coletada por abelhas *Apis mellifera*. (Adaptado de CRANE, 1990)

Fontes vegetais	Local	Substância
Anacardiaceae		
<i>Mangifera indica</i> L.	Tailândia, Montserrat	Resina
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Havaí	Resina?
Apocynaceae		
<i>Landolphia capensis</i> Oliver	África do Sul	Látex
<i>Plumeria rubra</i> L.	Havaí	Látex
Araucariaceae		
<i>Araucaria heterophylla</i> (Salisb.) Franco	Barbados	Resina
Betulaceae		
<i>Alnus sieboldiana</i> Matsumura	Japão	Lipossolúvel?
<i>Alnus viridis</i> (Chaix) DC	USA	Lipossolúvel
<i>Betula pendula</i> Roth		
como <i>B. alba</i>	USSR	Lipossolúvel
como <i>B. verrucosa</i>	USSR	Lipossolúvel
Burseraceae		
<i>Bursera excelsa</i> (Knuth.) Engelm.	México	Lipossolúvel?
<i>Bursera simaruba</i> (L.) Sarg.	México, Montserrat	Lipossolúvel, resina
<i>Protium copal</i> Engl.	México	
Caryophyllaceae		
<i>Lychnis viscaria</i> L.	URSS	Lipossolúvel
Casuarinaceae		
<i>Casuarina equisetifolia</i> J.R. Forst & G. Forst	Barbados, Egito e Seicheles	Resina
Compositae		
<i>Cynara cardunculus</i> L.	Chile	
<i>Helianthus annuus</i> L.	Grã-Bretanha	Mucilagem
Cornaceae		
<i>Cornus mas</i> L.	Romênia	
Euphorbiaceae		
<i>Hevea brasiliensis</i> Muell. Arg. (das folhas).	Botswana	Cera
Fagaceae		
<i>Castanea sativa</i> Mill.	França	
<i>Quercus robur</i> L.	França	
Guttiferae		
<i>Calophyllum inophyllum</i> L.	Seicheles	
Hippocastanaceae		
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	URSS e França	Lipossolúvel
Labiatae		
<i>Salvia officinalis</i> L.	URSS	
Lauraceae		
<i>Laurus nobilis</i> L.	Itália	
Leguminosae		
<i>Acacia</i>	África do Sul	Mucilagem
<i>Acacia karroo</i> Hayne	Botswana	Mucilagem
<i>Brachystegia utilis</i> Burt Davy & Hutch.	Zimbábue	
<i>Hymenae courbaril</i> L.	México	Resina
<i>Julbernardia baumii</i> (Harms) Troupin	Zaire	Resina?
<i>Schizolobium parahybum</i> (Vell.) Blake	Zaire	Resina?
<i>Sophora japonica</i> L.	Romênia	Resina?

continua...

continuação...

Fontes vegetais	Local	Substância
Liliaceae		
<i>Xantorrhoea</i> spp. incluindo <i>johnsonii</i>	Austrália	Resina
<i>Xantorrhoea australis</i> R. Br.	Austrália	Resina
<i>Xantorrhoea preissii</i> Endl.	Austrália	Resina
Malvaceae		
<i>Althae rosea</i> (L.) Cav.	Grã-Bretanha	Mucilagem
<i>Hibiscus rosa-sinesis</i> L.	Zaire	Mucilagem
Moraceae		
<i>Artocarpus altillis</i> (Parkinson) Fosberg	Barbados e Montserrat	Látex
<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	Seicheles	Látex
<i>Ficus caricas</i> L.	Botswana	Resina
<i>Ficus elastica</i> Roxb. ex Hornem	Tailândia	Látex
<i>Ficus thonningii</i> Blume	Angola	Látex
Myoporaceae		
<i>Myoporum laetum</i> Forst. f.	Nova Zelândia	
Myrtaceae		
<i>Eucalyptus sideroxylon</i> A. Cunn. Ex Wolls	Havaí	
<i>Psidium guajava</i> L.	Havaí	
Oleaceae		
<i>Fraxinus</i> L.	EUA	
<i>Fraxinus excelsior</i> L. ash	desconhecido	
Onagraceae		
<i>Epilobium angustifolium</i> L.	URSS	
Palmae		
<i>Cocos nucifera</i> L.	Seicheles	
Pinaceae		
<i>Albies alba</i> Miller	Romênia	Resina
<i>Pinus wallichiana</i> A.B. Jacks	Romênia	Resina
Rosaceae		
<i>Prunus armeniaca</i> L.	Romênia	Goma
<i>Prunus avium</i> L.	Egito	
<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh. ou <i>Prunus cerasus</i> L.	URSS Romania	Goma Goma
Salicacea		
<i>Populus alba</i> L.	Itália	Lipossolúvel
<i>Populus angustifolia</i> E. J.	USA	
<i>Populus balsamifera</i> L.	USA	
<i>Populus canadensis</i> Moench.	Itália	Lipossolúvel
<i>Populus deltoides</i> Bartr. ex Marsh.	África do Sul	Lipossolúvel
<i>Populus x euramericana</i> (Dode) Guinier	Reino Unido USA	
<i>Populus nigra</i> L.	Itália	Lipossolúvel
<i>Populus tremula</i> L.	Itália	Lipossolúvel
<i>Populus trichocarpa</i> Torr. & A. Gray	Canadá	Lipossolúvel
<i>Salix alba</i> L.	Romênia	Lipossolúvel
<i>Salix babylonica</i> L.	Egito	
<i>Salix caprea</i> L.	URSS	Lipossolúvel
<i>Salix cinerea</i> L.	Romênia	Lipossolúvel
Sterculiaceae		
<i>Sterculia tragacantha</i> Lindl.	Zaire	Goma
Zygophyllaceae		
<i>Larrea tridentata</i> (DC.) Cov.	USA	

duto. Possivelmente, a combinação de vários métodos seja a melhor estratégia a ser adotada.

Ressalte-se que, no caso da utilização de técnicas indiretas, os resultados são algumas vezes não-conclusivos, dada à heterogeneidade e diversidade de informações obtidas com essas análises. Em amostras oriundas de países tropicais, tal fato pode ser atribuído, principalmente, à diversidade da flora presente, podendo as abelhas ser atraídas por diferentes fontes vegetais em um mesmo local. Soma-se a essas dificuldades a falta de conhecimento dos constituintes químicos presentes em muitas espécies vegetais. Também, investigações químicas de material vegetal são tradicionalmente conduzidas com porções de biomassa de muitas partes não-coletadas pelas abelhas, além das coletadas.

Apesar de adequada, as dificuldades na viabilidade da técnica de observação direta no campo são uma realidade, em função da complexidade que o estudo do comportamento de forrageamento de *Apis mellifera* para obtenção de própolis apresenta, quando comparado aos estudos para obtenção de outros recursos, como néctar e pólen. O principal fator em questão é o reduzido percentual de indivíduos que executam tal atividade por colônia, apesar de que esse número pode ser alterado em função da necessidade.

SANTOS (1996), ao estudar o forrageamento de própolis de abelhas *Apis mellifera* africanizadas, observou que o forrageamento para coleta desse recurso é pouco representativo em relação a outras atividades de campo, incluindo coleta de pólen. Em seus resultados, constatou-se que apenas cerca de 1% dos indivíduos de uma colônia coletavam própolis. Já a atividade de coleta de pólen observada foi de aproximadamente 35%. Tais resultados justificam-se, possivelmente, pela reduzida demanda do produto pela colônia, em relação a outros recursos que garantem sua nutrição (pólen, néctar e água). Temperatura e insolação são, segundo o autor, fatores ambientais determinantes no comportamento de forrageamento de própolis.

GREENAWAY *et al.* (1990) constataram diferenças marcantes no perfil químico de amostras de própolis oriundas do Equador, quando comparadas com aquelas originárias de países de clima temperado e subtropical. Os autores atribuíram tais diferenças a possíveis novas fontes de própolis presentes em zo-

nas tropicais, utilizadas por abelhas *Apis mellifera*, em função da ausência de espécies de *Populus*. Todavia, tais fontes não foram por eles determinadas.

Em regiões tropicais, em especial no Brasil, o grande desafio nesta área é justamente a grande diversidade florística e a disponibilidade de espécies potencialmente atrativas para as abelhas para coleta de própolis. De acordo com JOLY (2001), o País é recordista em termos de biodiversidade, detendo cerca de 20% das espécies do planeta. Aproximadamente 55.000 espécies de plantas estão catalogadas em território nacional, de um total estimado entre 350.000 e 500.000 espécies (GUERRA e NODARI, 2001).

TOMÁS-BARBERÁN *et al.* (1993) concluíram que as principais fontes de própolis da Venezuela seriam *Clusia minor* e *Clusia major* (Guttiferae), ao constatarem que a maioria das amostras por eles analisadas continham benzofenonas polipreniladas, também presentes em resinas que exsudam de flores daquelas espécies. Os autores associaram observações de campo de *Apis mellifera* visitando tais flores e coletando resina que exsuda da base dos estames (em *C. minor*) ou de um anel na porção mediana dos estames (em *C. major*), com resultados de análise química dessa resina e da própolis produzida. Constatou-se em seus resultados que, em uma mesma localidade, houve diferenças no padrão de compostos fenólicos e características organolépticas (cor) apresentados pelo extrato metanólico da própolis produzida pelas abelhas. Uma das amostras apresentou características completamente diferentes, sem nenhum composto comum às outras amostras, além do seu extrato apresentar cor pálida ou incolor, enquanto aqueles obtidos com outras amostras eram de cor marrom-avermelhada ou amarelada. Índícios associados a fatores ecológicos, relacionados à ordem de colonização da fonte vegetal coletada por abelhas *Apis mellifera*, podem estar relacionados.

BONVEHÍ e COLL (1994), analisando seis amostras de própolis oriundas do Uruguai e apenas uma amostra originária do Brasil, concluíram, por meio de análises espectrométricas que as diferenças encontradas no padrão de flavonóides das amostras foi suficiente para discriminar a origem geográfica. Sem, no entanto, esclarecer de que forma foram correlacionados os resultados químicos das amostras com suas origens botânicas, os autores afirmaram que as seguintes espécies contribuíram para a

composição das amostras analisadas: *Betula* spp., *Eucalyptus globulus* L., *Populus* spp., e *Salix* spp. (no Uruguai) e *Citrus sinensis*, *Coffea arabica*, *Saccharum officinarum* e *Eucalyptus* spp. (no Brasil).

Ressalte-se que em alguns casos os resultados obtidos devem ser avaliados com cautela, não sendo, muitas vezes, conclusivos para identificar a origem botânica da própolis. É válido, no entanto, excluir a possibilidade de participação de certos grupos vegetais, levando em conta a associação do conhecimento prévio dos constituintes químicos presentes nos vegetais e do perfil dos constituintes químicos das amostras analisadas.

BANSKOTA *et al.* (1998), por meio de comparações dos resultados de análises químicas efetuadas em amostras de própolis e informações da literatura de constituintes químicos presentes em diversas espécies vegetais, sugeriram que *Baccharis* spp. seria uma importante fonte de própolis no Brasil, além de *Clusia minor*, *Clusia major* (conforme já sugerido por TOMÁS-BARBERÁN *et al.*, 1993, na Venezuela) e *Araucaria heterophylla* (Pinaceae).

Os primeiros resultados de observações de forrageamento de própolis por *Apis mellifera* (africanizadas) no Brasil foram apresentados inicialmente por SANTOS (1996) e em seguida por SANTOS e MESSAGE (1997). Os autores constataram que em *Baccharis dracunculifolia*, conhecido popularmente como alecrim, a idade das abelhas coletoras variava de 41 a 63 dias. Observaram também que a coleta da própolis ocorria nas gemas apicais e axilares da planta, com o auxílio das mandíbulas e do primeiro par de patas, sendo depois transferida para a corbícula e transportada para a colônia. Foi observado ainda que as coletoras são capazes de recrutar outras operárias pelo comportamento de dança.

Ao detectarem fragmentos de epiderme de um só tipo de tricomas toectores e glandulares de *B. dracunculifolia* em amostras de própolis produzidas em áreas de cerrado de Minas Gerais, Brasil, BASTOS *et al.* (1998) também sugeriram grande participação dessa espécie na composição da própolis. Na análise do espectro polínico, grãos de pólen que se apresentaram na frequência de pólen isolado e/ou isolado ocasional indicaram, segundo os autores, a possível fonte botânica de resina (0 a 3% do total de grãos eram de *Baccharis* e de *Vernonia*).

Estudos conduzidos por WARAKOMSKA e MACIEJEWICZ (1992), fundamentados na análise de sedimentos de amostras de própolis com o objetivo de caracterizar os grãos de pólen, bem como outros componentes vegetais presentes, foram pioneiros. A constatação de discos (ou tricomas) secretores e outros elementos dotados de parede celular, os quais foram preservados durante as etapas de extração seqüencial das amostras com diferentes solventes orgânicos (etanol, benzeno e acetona, nesta ordem), serviu de indicação para a descoberta das fontes vegetais presentes. Paralelamente, foram preparadas lâminas com cortes de folhas de *Betula* e de *Alnus*. As observações os levaram a concluir que tais estruturas eram idênticas às presentes no sedimento insolúvel da própolis e que espécies de tais gêneros certamente seriam as fontes vegetais utilizadas para coleta pelas abelhas nos locais estudados.

Entretanto, para WARAKOMSKA e MACIEJEWICZ (1992), o conteúdo polínico encontrado nas amostras de própolis por eles analisadas refletia apenas a flora da região de origem, interpretação esta partilhada por muitos pesquisadores.

Ao conduzir o primeiro estudo sobre o pólen encontrado na fração insolúvel de própolis, Jungkunz (1932) (in GHUISALBERTI, 1979), observou a presença de pólen das leguminosas *Lupinus*, *Robinia* e *Onobrychis sativa*. Todavia, o autor também não concluiu a origem do produto em função dos tipos polínicos encontrados.

D'ALBORE (1979), pela análise polínica de amostras de própolis de diferentes países (inclusive do Brasil), constatou ser possível utilizar este elemento como indicativo da origem geográfica do produto, em função da ocorrência das espécies vegetais encontradas. As amostras analisadas foram submetidas a extração com mistura de etanol, clorofórmio e acetona em partes iguais. Segundo seus resultados, com base no espectro polínico e identificação de táxons vegetais pela morfologia dos grãos de pólen, é possível inferir sobre o tipo de vegetação de onde foi recolhida a própolis. Também BARTH *et al.* (1999) chegaram a esta conclusão. Com o objetivo de propor uma metodologia para preparo de própolis visando a estudos palinológicos, bem como caracterizar amostras de própolis provenientes de diferentes regiões geográficas do Brasil (RJ, MG e RS) por morfologia polínica, os autores identificaram os seguintes táxons vegetais mais frequentes: *Eucalyptus*, Compositae (principalmente *Eupatorium*)

e *Cecropia* (Cecropiaceae). Este último gênero, juntamente com *Ambrosia* (Compositae), *Piper* (Piperaceae) e *Brosimum* (Urticaceae), constituíram o pólen anemófilo mais representativo. Segundo os autores, as análises qualitativas e quantitativas dos tipos polínicos encontrados em amostras de própolis são instrumentos utilizáveis para a caracterização geográfica de sua procedência, bem como da origem florística e, em alguns casos, estacional das amostras. Como exemplo de pólen utilizado para referencial do período sazonal de coleta de própolis, foram citadas as observações de pólen de *Mimosa caesalpiniaefolia* (Leguminosae) e *Citrus* no sedimento das amostras.

Na interpretação de D'ALBORE (1979) e de BARTH *et al.* (1999), o pólen presente na própolis pode ter as seguintes origens: (a) carregado pelo vento, adere-se à resina de exsudados vegetais; (b) é um contaminante, colhido em separado pelas abelhas para armazenamento dentro da colméia; (c) vem aderido ao corpo das abelhas durante trabalhos de campo ou mesmo no interior da colméia.

Considerando que essas hipóteses representariam meras contaminações da própolis por pólen, não caberia a interpretação de que em alguma das alternativas haveria possibilidade de utilização de análises morfológicas de pólen provenientes de espécies vegetais, que estivessem também contribuindo em termos de fornecimento de matéria-prima, para coleta de própolis pelas abelhas.

Neste sentido, a hipótese mais provável a ser considerada seria a possibilidade de coleta de secreções resiníferas em estruturas florais por abelhas *Apis mellifera*, onde efetivamente poderiam estar ocorrendo contaminação de pólen aderidos aos pêlos do corpo do inseto, ou ainda, poderia ocorrer o evento do tipo citado pelos autores acima na hipótese (a).

Recentemente, a despeito de tais argumentos, a origem botânica da própolis vem sendo atrelada a estudos polínicos. A própolis produzida na região central do Chile tem sido intensamente estudada dessa forma. De acordo com VALCIC *et al.* (1998), a vegetação predominante na região é a matorral, dominada por espécies arbustivas perenes. Para VALCIC *et al.* (1999), tanto o pólen como fragmentos de folhas têm considerável valor em termos de sistemática, na análise da origem botânica da própolis. As investigações da origem botânica da própolis oriun-

da da região central do Chile, por eles conduzidas, basearam-se em análises microscópicas dessas estruturas. Em seus resultados constatou-se que os grãos de pólen que apareciam mais frequentemente e de forma significativa nas amostras eram das espécies nativas *Baccharis linearis* (Asteraceae), *Buddleja globosa* (Loganiaceae), *Peumus boldus* (Monimiaceae) e *Salix humboldtiana*, e das espécies exóticas *Eucalyptus globulus* e *Ricinus communis* (Euphorbiaceae). Fragmentos de folhas de quatro espécies nativas, quais sejam, *Baccharis linearis*, *Kageneckia oblonga* (Rosaceae), *Lithraea caustica* (Anacardiaceae) e *Trevoa trinervis* (Rhamnaceae) foram facilmente visualizados e identificados nas amostras de própolis, em função da presença de tricomas glandulares e filamentosos e do formato dos estômatos. Embora pólen dessas espécies também estivessem presentes nas amostras analisadas, o nível de significância só foi atingido pela última espécie citada. Diante dos resultados, os autores concluíram que as espécies de plantas consideradas como as principais fontes botânicas da própolis analisada foram aquelas cujo pólen ocorre em grande quantidade (significativa estatisticamente) e aquelas espécies cujos fragmentos de folhas foram também identificados (neste caso, apenas quando associadas à presença de seus respectivos grãos de pólen).

MONTENEGRO *et al.* (2000) diagnosticaram a origem botânica da própolis da região central do Chile em três localidades, onde o clima é do tipo mediterrâneo, pela presença de grãos de pólen no sedimento insolúvel das amostras. As espécies nativas mais representativas foram *Baccharis linearis* (Ruiz & Pav.) Person, *Buddleja globosa* Hope, *Peumus boldus* Molina e *Salix humboldtiana* Willd. Os grãos de pólen que apareceram de maneira mais significativa de espécies exóticas foram de *Eucalyptus globulus* Labill. e *Ricinus communis* L. Foi constatada ainda a presença de grãos de pólen de outras espécies, tais como *Aristotelia chilensis* Stuntz (Elaeocarpaceae), *Cestrum parqui* L'Hér. (Solonaceae), *Citrus limon* (L.) Burm., *Colliguaja odorifera* Molina (Euphorbiaceae), *Cryptocarya alba* (Molina) Looser (Lauraceae), *Escallonia illinita* (Saxifragaceae), *Eupatorium glechonophyllum* Less. (Asteraceae), *E. salvia* Colla, *Hypochaeris radicata* L. (Asteraceae), *Lithraea caustica* (Molina) Hook. & Arn. (Anacardiaceae), *Maytenus boaria* Molina (Celastraceae), *Populus alba* L. (Salicaceae), *Quillaja saponaria* Molina (Rosaceae) e *Trevoa trinervis* (Rhamnaceae). A presença de grãos de pólen dessas espécies, com níveis de frequência

estatisticamente significativas, é, segundo os autores, suficiente para indicá-las como fontes de própolis. Outro parâmetro utilizado pelos autores para obtenção do diagnóstico foi a identificação de fragmentos de folhas e outras estruturas vegetativas presentes no sedimento (presença de estômatos, epiderme e tricomas). Este parâmetro, no entanto, foi considerado secundário, já que nas conclusões do trabalho, embora fragmentos de folhas de *Baccharis linearis*, *Kagenechia oblonga*, *Lithraea caustica* e *Trevoa trinervis* tenham sido facilmente reconhecidos nas amostras de própolis (devido a suas características filamentosas e tricomas glandulares), apenas *B. linearis* foi incluída como uma das principais fontes de própolis na região estudada. Para os autores, a frequência polínica significativa de determinada espécie no sedimento insolúvel de própolis é o principal parâmetro a ser avaliado.

MONTENEGRO *et al.* (2001a), ao estudarem a origem botânica e produtividade sazonal da própolis naquela mesma região, mas proveniente de outra localidade, basearam-se também em estudos micromorfológicos de grãos de pólen e de anexos de epiderme (glândulas da epiderme, tricomas e tecidos de gemas) presentes no sedimento insolúvel das amostras analisadas. Foi constatado que espécies das famílias Myrtaceae e Salicaceae foram as mais representativas quanto ao forrageamento de abelhas melíferas para coleta de resinas e óleos para produção de própolis. Novamente para os autores, a participação de espécies como fonte de própolis pôde ser avaliada pela representatividade de grãos de pólen presentes nas amostras. Desta forma, as espécies exóticas que contribuíram de maneira mais significativa foram *Eucalyptus globulus* e *Populus alba* (não inserida na seção *Aigeiros*). Já as espécies nativas foram: *Baccharis lineares*, *Escallonia illinita*, *Pelmus boldus* e *Quillaja saponaria*. Fica claro que na apresentação dos resultados principais, foi considerada, principalmente, a presença de grãos de pólen, embora outros indicadores (tricomas ou estruturas remanescentes da epiderme) também tenham sido estudados (não durante o ano todo, mas especialmente em períodos em que a planta não estava florescendo).

Paralelamente, considerando dez outras localidades na mesma região central do Chile (entre 32° e 38° latitude sul), MONTENEGRO *et al.* (2001b) confirmaram que as abelhas coletam resinas principalmente das famílias Salicaceae e Myrtaceae, sendo desta vez as espécies *Salix humboldtiana* (nativa) e

Eucalyptus globulus (exótica) as mais representativas. Suas conclusões basearam-se novamente na presença constante de pólen dessas espécies nas amostras estudadas, sendo suas proporções dentro da fração polínica sempre significativas. Outras espécies também foram utilizadas como fonte de própolis, porém não representadas em todos os locais estudados, segundo os autores: *Baccharis linearis*, *Lithraea caustica* e *Quillaja saponaria* (espécies nativas) e *Populus alba* (espécie exótica). Houve ainda espécies que não apresentaram importância quando o conjunto dos dez locais foi avaliado, sendo, todavia, importantes no local onde se encontravam, por exemplo *Escallonia rubra*, *Escallonia pulverulenta* e *Otholobium glandulosum* (Leguminosae). Os autores concluíram que a participação dessas espécies só ocorreu porque havia baixa disponibilidade de fontes consideradas por eles preferidas pelas abelhas, como *Eucalyptus globulus* e *S. humboldtiana*.

Também foram avaliadas estruturas morfológicas dos vegetais presentes nas amostras, como possíveis indicadores da origem botânica (tecidos epidérmicos, tricomas filamentosos, glândulas e estômatos). A importância da presença dessas estruturas nas amostras, durante a discussão do trabalho, foi vinculada a aspectos não só de local de coleta do vegetal, mas também da fenologia das espécies vegetais em questão. Por exemplo, quando as estruturas vegetais presentes não pertenciam a espécies ditas significativas na fração polínica, afirmou-se que os exsudados coletados eram produzidos principalmente em órgãos vegetativos e que as espécies não estavam em floração. Ademais, quando as estruturas morfológicas presentes eram associadas às espécies de maior importância dentro da fração polínica, a discussão foi conduzida no intuito de considerar que tanto as flores como outras partes dos vegetais eram utilizadas pelas abelhas para coleta de própolis.

Ao mesmo tempo em que afirmaram em seus trabalhos a importância de considerar as estruturas vegetais como um dos parâmetros utilizados na identificação da origem da própolis, MONTENEGRO *et al.* (2000, 2001a, 2001b) concluíram que a análise da composição polínica específica da própolis pode ser usada prioritariamente na determinação de sua origem botânica.

Secreção de resina em estruturas florais

Interessantes considerações foram efetuadas por

ARMBRUSTER (1984) quanto ao papel das resinas na polinização de angiospermas. O autor sugeriu que secreções de resinas em estruturas florais podem ter se originado como uma defesa contra herbívoros e que, secundariamente, tais secreções se transformaram em objeto de recompensa para polinizadores. As resinas florais podem ser um recurso importante para certas abelhas, as quais, em contrapartida, se tornam os principais polinizadores de muitas espécies de plantas tropicais. Até o momento, foram descritos apenas dois gêneros não-correlacionados de plantas, *Dalechampia* (Euphorbiaceae) e *Clusia* (Guttiferae), que atraem polinizadores pela secreção de resinas em suas estruturas florais.

Nos primeiros estudos desenvolvidos para identificar outros recursos disponibilizados pelos vegetais aos polinizadores, além de pólen ou néctar, constatou-se a produção de óleos secretados por flores. Data de fins do século XIX a primeira observação de abelhas coletando resina em estruturas florais de *Dalechampia* (Muller, 1879, in ARMBRUSTER, 1984), cuja secreção ocorre nas brácteas, embaixo de flores estaminadas da inflorescência bissexual. Embora tecnicamente essas brácteas sejam extraflorais, ARMBRUSTER e WEBSTER (1979) se referem a tais secreções como florais ao considerarem a função atrativa da resina.

De acordo com ARMBRUSTER (1984), dentre os diversos táxons de insetos que coletam resinas para utilização no ninho, as abelhas da superfamília Apoidea, especialmente Apidae e Megachilidae são as mais representativas. Fêmeas das tribos Apini, Euglossini e Meliponini (todos da família Apidae) apresentam comportamento de coleta de resina semelhante: iniciam a coleta com as mandíbulas, manipulam o material coletado com o primeiro par de patas e o transferem para as corbículas, localizadas nas patas traseiras. Como consequência, não deve ocorrer coleta de resina e pólen concomitantemente, além do que, presumivelmente, pólen e resina misturados numa mesma carga na corbicula não serviriam como suprimento alimentar para as larvas, devido à impossibilidade de digestão de muitos compostos presentes. Já as abelhas da família Megachilidae transportam resina em forma de pequenos glóbulos, embaixo de suas mandíbulas, o que permite que a escopa abdominal permaneça livre para coleta de pólen na mesma viagem, o que, segundo o autor, significaria economia de energia para o indivíduo, com minimização de custo e maximização de benefícios.

Todavia, as observações de ARMBRUSTER e WEBSTER (1979) e de ARMBRUSTER (1984), quanto à coleta de resina em *Dalechampia* só dizem respeito a abelhas da tribo Euglossini, Meliponini e da família Megachilidae, não tendo sido feita menção quanto a abelhas do gênero *Apis*.

Analogamente, nenhuma observação foi feita quanto à coleta de resina floral por abelhas do gênero *Apis* em *Clusia*. Muitas espécies deste gênero vegetal secretam resina em flores estaminadas que apresentam um conjunto de estaminódios centrais, circundados pelos estames férteis e em flores pistiladas circundadas por anéis de estaminódios.

Para ARMBRUSTER (1984), a hipótese de que a coleta de resina em estruturas florais tenha fins nutricionais para as abelhas é pouco provável, já que a maioria das espécies que efetuam esta atividade o fazem para utilização no ninho como proteção mecânica e/ou química.

Assim, para o completo entendimento do significado ecológico da secreção de resinas florais, são necessárias avaliações dos compostos presentes, bem como a sua disponibilidade e utilidade para as abelhas que os coletam.

Metabólitos na identificação da origem botânica da própolis

Os vegetais, assim como outros organismos, apresentam todo um arsenal metabólico capaz de produzir, transformar e acumular inúmeras substâncias não necessariamente relacionadas de forma direta à manutenção da vida do organismo produtor. Essas substâncias, cujo acúmulo e produção estão restritos a um número limitado de organismos, podem ser caracterizadas como elementos de diferenciação e especialização (WINK, 1990). Todo esse conjunto metabólico costuma-se definir como metabolismo secundário, cujos produtos, embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para a sua sobrevivência e para perpetuação da espécie em seu meio (SANTOS, 2001). Assim, para WINK (1990), os compostos secundários estão direta ou indiretamente relacionados a adaptações das plantas ao meio em que se encontram, em função de condições climáticas, de presença de microorganismos ou mesmo de interações com animais (incluindo dispersores de sementes, polinizadores ou insetos herbívoros), além

de alelopatias (HARBORNE, 1988). Esse diverso grupo de produtos naturais, os quais incluem alcalóides, terpenóides, compostos fenólicos e outros compostos, considerados não-essenciais para processos metabólicos básicos, têm sido extensivamente empregados como caracteres taxonômicos em estudos de sistemática de plantas superiores (GERSHENZON e MABRY, 1983). Assim, esses compostos podem assumir papel importante quanto à possibilidade de identificação da origem botânica da própolis, por meio de conhecimentos de quimiosistemática. Os flavonóides, por exemplo, têm sido os metabólitos secundários mais utilizados em sistemática, em função, dentre outros fatores, de suas variações estruturais, além da estabilidade, rapidez e facilidade com que podem ser identificados (HARBORNE, 1967), muito embora, segundo SEELIGMANN (1994) e HARBORNE (1969), em muitos grupos de plantas, como por exemplo, Asteraceae, a distribuição de flavonóides nem sempre reflete relações filogenéticas entre tribos ou gêneros.

Própolis oriundas da América do Norte são reconhecidamente ricas em óleos voláteis e compostos fenólicos, principalmente flavonas, flavanonas e flavonóis (GREENAWAY *et al.*, 1990, GARCÍA-VIGUERA *et al.*, 1993, BANKOVA e POPOV, 1994), que são classes de substâncias flavonoídicas. Em trabalho recente, PARK *et al.* (2002) ao investigar a origem botânica de amostras de própolis brasileiras e suas composições químicas constatou a presença de flavonóides em amostras oriundas das regiões sul e sudeste, atribuindo a origem das mesmas a *Populus* ("poplars tree") e *Baccharis dracunculifolia*, respectivamente. Em amostras oriundas do nordeste brasileiro (Bahia), no entanto, a presença de tais compostos não foi detectada, o que demonstra que dependendo da região de produção, os flavonóides assumem papel secundário. Desta forma, a utilização destes compostos como marcadores para designar a origem botânica da própolis de regiões tropicais pode tornar-se inviável em certas regiões.

Outros constituintes químicos podem ser utilizados em estudos taxonômicos, inclusive macromoléculas (como proteínas e ácidos nucléicos), mas fatores como simplicidade na identificação de metabólitos secundários e disponibilidade de técnicas analíticas rápidas e precisas, além de custo não-elevado, são extremamente importantes e devem ser considerados, principalmente no que tange às análises de rotina empregadas na avaliação de identidade e qualidade do produto.

Genericamente, a própolis constitui-se de cerca de 50 a 80% de resinas e substâncias balsâmicas, 4,5 a 15% de óleos essenciais e outras substâncias voláteis, 12 a 50% de cera, 4 a 10,5% de substâncias tânicas e menos de 15% de impurezas mecânicas, das quais 5 a 11% são grãos de pólen (ASIS, 1993). Quantidades variáveis de alguns nutrientes, como as vitaminas A, B1, B2, B6, C, E, ácido nicotínico e ácido pantotênico (ASIS, 1991), além de aminoácidos (MARCUCCI *et al.*, 1996), também estão presentes. Todavia, a amplitude qualitativa e quantitativa dessas substâncias é considerável e, nos trópicos, provavelmente, tais generalizações podem ser consideradas prematuras, considerando a magnitude da biodiversidade presente e o número de amostras já analisadas (segundo suas origens).

Há que se considerar ainda que muitos compostos presentes na própolis podem advir de fontes botânicas que não a originaram, como por exemplo constituintes de pólenes contaminantes e carboidratos agregados durante o processo de manipulação pelas abelhas. Para alguns autores, existe também a possibilidade de modificações químicas neste processo de manipulação (GHISALBERTI, 1979, BONVEHÍ e COLL, 1994 e GREENAWAY *et al.*, 1990), o que, quando comprovado, deve ser considerado em correlações de avaliações químicas da própolis e das fontes vegetais.

A ausência ou evidente escassez de estruturas anatômicas vegetais em certas amostras de própolis é uma realidade. Tal fato pode ser indicativo de que está ocorrendo coleta de exsudados disponibilizados em troncos e ramos ou mesmo de estruturas florais de espécies vegetais que estão exercendo poder de atração sobre as abelhas, sem que no momento da coleta sejam carreados fragmentos de tecidos vegetais ou que sejam em quantidade insignificante. Neste caso, a busca de identificação de possíveis marcadores fitoquímicos pode ser uma alternativa, apesar das dificuldades que o uso desta estratégia analítica possa significar.

Estudos nesse sentido vêm sendo conduzidos há anos na tentativa de identificação da origem floral de méis. A experiência tem demonstrado que esta não é uma tarefa fácil, já que se fazem necessárias avaliações concomitantes de forrageamento para certificação da origem do produto e comparações posteriores das análises químicas. Ainda, avaliações da influência de fatores ambientais e fenológicos devem ser consideradas na síntese e alocação de

compostos pelas espécies vegetais em questão.

Dificuldades sem dúvida existem e a caracterização do perfil químico e o isolamento e identificação de substâncias encontradas em produtos naturais constituem-se em grande desafio intelectual (MATOS, 1988). No entanto, o crescente desenvolvimento de novas técnicas analíticas, como a cromatografia, e o contínuo aperfeiçoamento dos instrumentos de análise espectrométricos, dentre outros, têm permitido considerável avanço na química dos produtos naturais (cujo objetivo imediato é a identificação de constituintes resultantes do metabolismo secundário), bem como elucidação de suas estruturas moleculares (MANN, 1987).

Síntese e alocação de compostos secundários

As informações constantes neste item foram extraídas, principalmente, de SANTOS (2001), ao abordar a importância do processo de compartimentalização de certos compostos secundários para a sobrevivência do vegetal. Como exemplo, o autor cita os glicosídeos cianogênicos que são estocados nos vacúolos das células epidérmicas e que, portanto, encontram-se isolados das hidrolases, localizadas nos tecidos do mesófilo adjacente. Somente nas situações em que os tecidos são danificados é que os glicosídeos cianogênicos e as hidrolases interagem, havendo liberação de cianidreto. Assim, a própria planta produtora fica protegida e utiliza essa estratégia em caso de ataque por herbívoros. Todavia, a maioria dos mecanismos que regulam tanto a biossíntese quanto a estocagem e a degradação dos compostos secundários permanecem ainda desconhecidos.

Embora qualquer tecido ou célula vegetal tenha a capacidade de biossintetizar metabólitos secundários, parece que isto ocorre somente em alguns tecidos ou mesmo em células especiais, em função do seu grau de diferenciação e desenvolvimento. Em alguns casos, a produção pode estar restrita a um estágio específico do desenvolvimento do vegetal ou a determinadas condições ecológicas ou ambientais.

Em várias espécies, o local da biossíntese está restrito a um órgão, enquanto os produtos são acumulados em toda a planta ou em órgãos diferentes.

Para WINK (1990), os metabólitos secundários

mais hidrofílicos tendem a ser armazenados nos vacúolos, enquanto os lipofílicos se acumulam em ductos originados por células mortas ou ligam-se aos componentes celulares lipofílicos, como membranas e ceras cuticulares. De acordo com esse autor, a produção de metabólitos secundários é resultado de complexas interações entre biossíntese, transporte, estocagem e degradação. Cada um desses processos, por sua vez, é governado por genes e, portanto, será influenciado por três fatores principais: hereditariedade, ontogenia e ambiente (ROBBERS *et al.*, 1996).

MANN (1987) sugeriu que as rotas metabólicas dos compostos secundários podem ser ativadas durante alguns estágios particulares de crescimento e desenvolvimento ou em períodos de estresse causados por limitações nutricionais ou ataque microbiológico.

Uma das dificuldades encontradas na determinação do perfil químico de espécies vegetais é a variação observada quanto ao conteúdo de metabólitos secundários. Fatores não necessariamente genéticos e ambientais estão também relacionados, como por exemplo o próprio órgão vegetal analisado. Assim, conclusões sobre a possibilidade de uso de certo composto para fins taxonômicos só podem ser obtidas a partir de uma amostragem adequada: de um grande número de membros de uma espécie, em diferentes estádios de desenvolvimento e em diferentes ambientes. Ainda, a aplicação de resultados analíticos em sistemática só deve ser efetuada se todas as espécies de um gênero forem investigadas (VICKERY e VICKERY, 1981).

As substâncias secretadas pelos vegetais podem permanecer no citoplasma (em compartimentos como vacúolos, ou livres) ou podem ser eliminadas da célula. Quando eliminadas da célula, podem permanecer dentro da planta, em espaços intercelulares, como ductos e cavidades (os quais mostram-se alongados e arredondados em cortes longitudinais, respectivamente) ou podem ser eliminadas da planta (como acontece com os nectários e hidatódios). Podem ainda permanecer em apêndices como tricomas ou glândulas de sal, os quais ao sofrerem injúrias eliminam o conteúdo existente, podendo desintegrar-se ou regenerar-se.

Diversas obras discutem a classificação ideal das estruturas secretoras nos vegetais, dada à comple-

xidade morfológica, fisiológica e citológica. SCHNEPF (1974) diferenciou as estruturas secretoras de acordo com a natureza química das substâncias secretadas (hidrofilicas: glândulas mucilaginosas, digestivas e de sal, nectários e hidatódios ou lipofilicas: algumas glândulas e alguns tricomas). ESAU (1985) classificou as estruturas de acordo com a localização (externas: que se encontram na superfície dos vegetais e internas: que se encontram incluídas nos tecidos dos vegetais).

FAHN (1979) agrupou os tecidos secretores da seguinte forma: (1) tecidos que eliminam substâncias não-modificadas, ou ligeiramente modificadas e cujo suprimento direto ou indireto fica a cargo do sistema vascular (floema: açúcares, e xilema: água, minerais e pequenas quantidades de substâncias orgânicas), quais sejam: hidatódios, glândulas de sal e nectários; (2) tecidos secretores em que os constituintes celulares sintetizam as substâncias secretadas (substâncias hidrofilicas e lipofilicas), como: tecidos secretores de mucilagem, glândulas das plantas carnívoras, células de mirosina, tricomas urticantes, tecidos que secretam substâncias lipofilicas e laticíferos. Para o autor, existem diferentes maneiras de eliminação de substâncias secretadas pelo citoplasma: (1) holócrina – a célula desintegra-se e (2) merócrina – o citoplasma permanece intacto. Neste caso, o processo de eliminação da substância pode ocorrer (a) por diferença de gradiente de concentração, (b) a substância pode ser coletada por vesículas que se fundem diretamente com o plasmalema (ou tonoplasto) ou (c) invaginações do plasmalema envolvem a vesícula com a substância que é então eliminada do protoplasto.

Outra forma de classificação da substância secretada baseia-se no local de deposição do material. Segundo esta proposta, denomina-se de secreção endógena o material secretado e acumulado em espaços intercelulares e de secreção exógena substâncias secretadas e eliminadas pela planta por diversos tipos de estruturas secretoras epidérmicas (FAHN, 1990).

As dificuldades de classificação se intensificam quando estruturas semelhantes secretam diferentes tipos de compostos ou quando a mesma estrutura secreta compostos de diferentes naturezas químicas, como ocorre com os idioblastos. Segundo ESAU (1985), idioblastos são células de um tecido qualquer que diferem marcadamente das outras pela forma, tamanho, conteúdo, espessura da parede ou

mesmo pela função. Podem secretar mirosina, taninos, mucilagem, cristais, óleos essenciais, resinas etc.

Um bom exemplo desta heterogeneidade são os laticíferos, conforme apresentado por FAHN (1990). Látex ocorre em muitas angiospermas e é caracterizado por uma suspensão ou em alguns casos uma emulsão, de muitas partículas em um líquido. Esse líquido pode ocorrer em células isoladas alongadas ou em uma série de células, as quais recebem a denominação de laticíferas. Pode estar presente na forma de gotas no citoplasma ou em vacúolos. A composição química das partículas em suspensão ou emulsão difere consideravelmente entre espécies, podendo ser bastante heterogênea (partículas de borracha, ceras, resinas, proteínas, óleos essenciais, mucilagens, grãos de amido etc.). Ainda, sais e ácidos orgânicos podem estar presentes na solução, além de açúcares, taninos, alcalóides e enzimas proteolíticas. Por conseguinte, o látex pode apresentar cores também variadas, desde branco leitoso até cor amarelada, alaranjada ou incolor.

Entretanto, compostos similares podem ser secretados por diferentes tipos de estruturas, como ocorre com tricomas e ductos internos (FAHN, 1979).

Embora as estruturas secretoras venham sendo estudadas intensamente, ainda não se detém conhecimento pleno da composição química do material que é secretado. É comum o uso dos termos óleos, resinas, mucilagens etc., porém este emprego tem sido feito em sentido amplo e a natureza do material secretado tem sido atribuída muito mais às características que apresenta quando observado sob microscopia (como por exemplo cor) do que com base em avaliações químicas específicas (METCALFE, 1983).

Assim, os principais sítios de síntese de compostos oriundos do metabolismo vegetal, bem como alocação final, são bastante variáveis, podendo estar relacionados tanto a estruturas secretoras internas como externas.

Essas informações evidenciam a dificuldade existente em se correlacionar a natureza dos compostos encontrados nas amostras de própolis e os respectivos locais de coleta no vegetal, sem que se utilizem conjuntamente outras ferramentas analíticas. Ainda, o fato de muitos constituintes químicos estarem amplamente distribuídos em diferentes grupos ve-

getais e considerando o tempo necessário para obtenção de resultados de determinações químicas, avaliações morfológicas das células secretoras apresentam grande utilidade em termos de diagnóstico.

Neste contexto, análises de fragmentos de tecidos vegetais assumem papel importante como indicadores de táxons vegetais. Dentre as diversas estruturas que podem ser utilizadas como indicadores de origem botânica enumeradas por METCALFE (1983), encontram-se as células secretoras e as cavidades e canais secretores. Analogamente, essas estruturas, quando presentes em amostras de própolis, podem ser consideradas um importante indicativo de sua origem.

De acordo com METCALFE (1983), produtos do metabolismo vegetal podem ser depositados em células ou em espaços intercelulares com epitélio secretor. As células secretoras se diferenciam das células vizinhas por conter material secretado (por exemplo células taniníferas e células que contêm mucilagem) ou pela aparência morfológica. Na opinião do autor, quando diferenciadas por características morfológicas, essas células são classificadas como idioblastos secretores. Idioblastos que contêm óleo são denominados glândulas. Essas células podem conter outras substâncias como mirosina, substâncias oleosas, substâncias mucilaginosas e substâncias resinosas (FAHN, 1990). Os óleos também podem ser secretados em tricomas glandulares que emergem da superfície da planta (METCALFE, 1983).

De acordo com METCALFE e CHALK (1979), o valor taxonômico de tricomas está bem estabelecido, podendo delimitar espécies, gêneros ou mesmo famílias. Por estarem frequentemente presentes e serem facilmente observadas, essas estruturas são consideravelmente importantes em investigações sistemáticas de angiospermas. Além disso, o número de espécies de angiospermas que são completamente isentas de tricomas em todas as partes da planta representa pequena minoria. Em muitos casos, a ausência de tricomas pode estar associada a casos em que houve degeneração nos estágios iniciais de desenvolvimento ou mesmo perda imediatamente após a maturação (THEOBALD *et al.*, 1979).

Considerando-se que as abelhas coletam matéria-prima para elaboração da própolis frequentemente em primórdios foliares, também os tricomas podem ser utilizados efetivamente para diagnóstico das espécies vegetais que a originaram.

Estruturas secretoras na identificação da origem botânica da própolis

Pioneiramente, WARAKONMSKA e MACIEJEWICZ (1992) sugeriram a utilização de observações de fragmentos de epiderme e algumas estruturas vegetativas para reconhecimento de espécies utilizadas por *Apis mellifera* para coleta de própolis na Polônia. Na América do Sul, além das pesquisas desenvolvidas na região central do Chile (VALCIC *et al.*, 1998, VALCIC *et al.*, 1999, MONTENEGRO *et al.* 2000, MONTENEGRO *et al.* 2001a, MONTENEGRO *et al.* 2001b), OLIVEIRA e BASTOS (1998) encontraram estruturas secretoras em sedimento de própolis, as quais foram utilizadas como diagnóstico da origem botânica das amostras oriundas de Minas Gerais, Brasil. Foram observados tricomas glandulares e tectores de *Baccharis dracunculifolia*, não sendo encontrados fragmentos foliares com feixes vasculares ou canais secretores desenvolvidos. Por conseguinte, as autoras concluíram que as abelhas coletaram resinas produzidas por tricomas glandulares localizados em ápices vegetativos.

FREIRE (2000), ao investigar as espécies vegetais constituintes de amostras de própolis, também oriundas de Minas Gerais, pela identificação anatômica das estruturas presentes, constatou que as abelhas são capazes de realizar cortes de fragmentos de tecido vegetal repletos de estruturas secretoras internas e externas de folhas jovens. Usando-se técnica baseada na proposta desenvolvida por WARAKONMSKA e MACIEJEWICZ (1992), observaram-se as seguintes estruturas no resíduo insolúvel da própolis de cor verde, de uma das localidades estudadas (Itapeçerica): tricomas tectores, tricomas glandulares, ápices foliares com ductos, todos caracteristicamente pertencentes a *Baccharis dracunculifolia*. Nas amostras de própolis de cor preta, oriundas de outra localidade (Virginópolis), as estruturas observadas foram: tricomas glandulares, tricomas tectores, hidatódios e fragmentos de tecidos, recobertos ou não com tricomas de *Vernonia rubriflora* (Asteraceae). Também traqueídeos de *Pinus* spp. estavam presentes nas amostras dessa região. Em suas conclusões, o autor afirmou ser possível associar características organolépticas, como cor, à origem botânica da própolis, em função da predominância das estruturas anatômicas encontradas. Todavia, uma avaliação quantitativa dessas estruturas não foi possível, em função da imprecisão ocorrida durante as tentativas de contagem das estruturas, as quais aparecem, muitas vezes, frag-

mentadas e sobrepostas. Outro resultado importante apresentado pela pesquisa foi a certificação de que há realmente preferência de coleta de própolis por *A. mellifera* em *Baccharis*. Não foram observados fragmentos de *Vernonia* nos sedimentos de amostras oriundas de Itapeçerica, embora tenha sido constatada a ocorrência desse gênero na área do apiário experimental.

BASTOS (2001), estudando amostras de própolis também produzidas em Minas Gerais, confirmou que a própolis verde dos locais avaliados origina-se de *Baccharis dracunculifolia*, por possuir inúmeros fragmentos dessa planta em seu sedimento. Esta confirmação foi realizada por meio de estudo anatômico, utilizando microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura. Segundo a autora, a própolis verde, com aspecto resinoso e quebradiço, apresenta em sua análise microscópica 90 a 100% de fragmentos epidérmicos, tricomas glandulares e tectores somados e até 1% de outras fontes resiníferas. Índices maiores que 1% de estruturas de *Vernonia polyanthes* alteram a coloração e o aspecto das amostras (amostras de própolis com fragmentos de *Vernonia polyanthes*, escamas de *Vellozia* spp. e/ou elementos de periderme, apresentavam coloração escura e aspecto pegajoso). Curiosamente, ao mesmo tempo em que a autora afirmou em suas conclusões que os grãos de pólen presentes nas amostras de própolis, além de indicarem a origem geográfica, podem ser utilizados como marcadores para elucidação das possíveis fontes de resina - no estudo foram indicados: *Astronium* spp., *Baccharis dracunculifolia*, *Eucalyptus* sp., *Vernonia polyantes*, *Hyptis* sp. (Labiatae). A autora afirmou que a coleta de resinas dos ápices vegetativos de *B. dracunculifolia* é feita pelas abelhas quando a planta não está em floração. Esta constatação não vai de encontro às observações de campo recentemente realizadas (não publicadas), segundo as quais, embora com menor frequência, *A. mellifera* também efetua coleta em primórdios foliares de *Baccharis* spp. durante a floração. A diminuição na frequência de visitação para coleta ocorre, provavelmente, em função da considerável queda de disponibilidade de ápices foliares, já que houve diferenciação meristemática para formação de flores, em detrimento de crescimento vegetativo do indivíduo.

Diante deste fato, não se deve descartar a possibilidade de modificações no perfil organoléptico e químico da própolis produzida em época de floração de *Baccharis* spp., seja por mudanças no padrão de

alocação de metabólitos secundários durante esse período ou mesmo pela coleta de matéria-prima em outras fontes vegetais mais disponíveis no momento, as quais garantiriam maior otimização na busca do recurso em questão, significando minimização de custo com maximização de benefícios.

Na grande maioria de amostras de própolis já analisadas, seja nos trópicos ou em zonas temperadas, os compostos fenólicos representavam mais de 50% dos constituintes químicos encontrados. De acordo com HALBROCK e SCHEEL (1989), a função fisiológica dos fenóis no desenvolvimento e metabolismo das plantas requer estudos mais detalhados, já que o padrão das atividades das vias de síntese varia durante o desenvolvimento vegetal e na distribuição espacial entre os órgãos individuais e os tipos de células. Esses compostos podem ser mais atuantes, segundo resultados obtidos por SIQUEIRA *et al.* (1991), no período de crescimento intenso do vegetal ou durante a diferenciação celular.

Considerando-se resultados de estudos desenvolvidos com própolis oriunda do Brasil, constata-se que membros da família Asteraceae apresentam importância significativa.

Relevância das relações *Apis mellifera* x *Baccharis* spp. (Asteraceae)

A família Asteraceae constitui-se em importante componente de praticamente todos os ecossistemas terrestres, muito embora relativamente poucas informações existam em termos de biologia da polinização de muitas de suas espécies. Biologia da polinização (ou ecologia da polinização) é o estudo das interações entre espécies vegetais e seus respectivos vetores. Estas interações podem ser muito simples (quando os vetores envolvidos são abióticos, como por exemplo água ou vento) ou extremamente complexas (quando vetores como animais estão associados, chegando a considerável grau de especificidade). Muitas interações de polinização se situam entre esses dois extremos, mas todas envolvem adaptações evolutivas em estruturas florais, com desenvolvimento em termos de recursos químicos para atrair e guiar o vetor para dentro da flor de diversas espécies de angiospermas (LANE, 1994).

Membros de muitos grupos de insetos visitam espécies de Asteraceae, entretanto, aqueles pertencentes à ordem Hymenoptera, especialmente

Apoidea (abelhas solitárias, em particular), são geralmente aceitos como sendo os polinizadores primários, apresentando relações especiais com a família em grande parte do mundo. Há consenso entre os estudiosos que a interação mutualística entre plantas e insetos polinizadores emerge de um conflito de interesses, e nem sempre apresenta resultado positivo simétrico (BRONSTEIN, 1994).

Embora existam algumas relações intrincadas e precisas de espécies vegetais com seus polinizadores, as quais são ricas e possibilitam interessantes estudos de biologia de polinização, poucas são as informações disponíveis a respeito de espécies de abelhas que visitam plantas invasoras no Brasil. Sob esta óptica, os resultados são especialmente escassos quando a espécie em questão é *A. mellifera*.

A maioria dos trabalhos sobre polinizadores aborda aspectos relacionados à biologia ou ecologia floral e à composição de comunidade de polinizadores.

Vários estudos sobre insetos associados a *Baccharis* spp. foram desenvolvidos principalmente na América do Norte, devido à crescente necessidade de se conhecer potenciais herbívoros para seu controle populacional (LARA e FERNANDES, 1994, ARAÚJO *et al.*, 1995). BOLDT e ROBBINS (1987), avaliando a fauna de insetos polinizadores de *Baccharis neglecta* (espécie dióica), constatou que, dentre as quatro ordens associadas (Coleoptera, Lepidoptera, Diptera e Hymenoptera), membros da família Apidae, e em especial *Apis mellifera* eram importantes no processo de formação de sementes, embora a polinização pelo vento também ocorresse. Segundo o autor, a frequência de visitação de *A. mellifera* é intensa durante a floração, sendo muitas espécies consideradas importantes para produção de mel naquela região (Pellet, 1930, in BOLDT e ROBBINS, 1987).

O gênero *Baccharis* apresenta distribuição cosmopolita, podendo ser encontrado na Oceania, América do Sul, América do Norte (PALMER, 1987) e América Central, possuindo mais de 500 espécies (SILVA e GROTTA, 1971).

BARROSO (1976) conduziu estudo detalhado sobre as espécies ocorrentes no Brasil da subtribo Baccharidinae, à qual pertence o gênero *Baccharis*. Cerca de 120 espécies estão representadas em terri-

tório nacional. Descrevendo suas características gerais, a autora enfatizou tratar-se de gênero cujas espécies são todas dióicas e apresentam capítulos com flores femininas e capítulos com flores masculinas, dispostas em indivíduos diferentes. São espécies de subarbustos ou arbustos ramificados, nos quais as folhas são, em geral, alternas e muito variáveis na forma e no tamanho, podendo ser glabras ou pilosas.

Segundo FERRACINI e PARAIBA (1995), o cerrado brasileiro constitui-se em uma das áreas mais ricas em espécies de *Baccharis*.

Constatações da estreita relação existente entre *Apis mellifera* e *Baccharis* spp., no que tange ao forrageamento de própolis, são recentes, o que justifica a ausência de estudos que avaliem as implicações ecológicas envolvidas. Há que se considerar ainda que também a introdução de abelhas melíferas no Brasil, bem como o processo de africanização ocorrido, são relativamente recentes.

Embora ainda não estudadas, os traumatismos mecânicos provocados pelas abelhas aos primórdios foliares visitados para coleta trazem, possivelmente, conseqüências importantes em termos de mecanismos desencadeados posteriormente para sobrevivência da planta.

De acordo com WILSON (1979), plantas masculinas e femininas diferem em termos de crescimento, nutrição e defesa e, portanto, a susceptibilidade ao ataque de herbívoros também pode ser distinta entre sexos. Alguns resultados têm comprovado essa hipótese, demonstrando que plantas masculinas de *Baccharis halimifolia* geralmente sofrem mais ataque de herbívoros do que plantas femininas (KRISCHIK e DENNO, 1990).

DANNIEL *et al.* (1985) afirmaram que, num mesmo táxon, herbívoros fazem distinção entre indivíduos de sexo e idade diferentes, além de preferirem diferentes partes da planta, e que tais afirmações justificam-se em função de composições químicas distintas. Uma das hipóteses apresentadas foi a possibilidade de ser mais vantajoso para o indivíduo do sexo feminino investir mais em defesa para garantir melhor qualidade reprodutiva. Seus estudos, no entanto, foram desenvolvidos com *Salix myrsinifoliaphylicifolia*.

Em trabalho recente, ARAÚJO *et al.* (1995), estu-

dando a influência do sexo e fenologia de *Baccharis dracunculifolia* sobre insetos herbívoros, embora não tenham encontrado diferenças estatísticas, constataram que houve tendência a maior riqueza e abundância total de insetos herbívoros em plantas masculinas nos períodos fenológicos estudados.

Conforme constatado por DELPH (1990), diferenças na qualidade nutricional entre plantas masculinas e femininas de espécies dióicas têm influência na comunidade de insetos herbívoros. Nesse sentido, faz-se necessária a condução de estudos sobre possíveis influências da fenologia e modificações do perfil químico da matéria-prima coletada por *Apis mellifera* nesses vegetais.

Recentemente, PIRES *et al.* (2002), estudando a preferência entre plantas de *Baccharis dracunculifolia* por abelhas africanizadas de *Apis mellifera* para coleta de própolis, bem como a determinação de horário e temperatura de maior coleta, em um apiário situado em Paula Cândido, MG, constataram que houve diferença significativa de coleta entre plantas masculinas e femininas (55,9% e 44,1% de abelhas, respectivamente). Observou-se também que a elevação de um grau na temperatura ambiente correspondia a um aumento de 4,7 bolotas de própolis coletadas a mais e interceptadas em coletores de pólen instalados nas colméias e utilizados para este fim (para avaliação quantitativa). O horário de maior coleta foi próximo às 13 horas, sendo as coletas desprezíveis antes das 9 horas e após as 16 horas. Serão efetuadas, posteriormente, avaliações da composição química das bolotas de própolis interceptadas antes e durante a floração.

Os resultados indicaram que relações semioquímicas provavelmente estão envolvidas e avaliações destas relações podem auxiliar na elucidação do comportamento de forrageamento para própolis.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Métodos indiretos de certificação de origem da própolis devem ser aperfeiçoados e melhor avaliados, levando-se em conta as implicações ecológicas envolvidas, de forma a assegurar a utilização de estruturas e de constituintes químicos vegetais encontrados na própolis, como indicadores da origem botânica do produto. A utilização de fragmentos de tecidos vegetais como indicador taxonômico presen-

te no sedimento de própolis oferece maior segurança no diagnóstico, devendo-se levar em consideração aspectos correlatos tais como características da composição da flora do local de coleta, bem como possibilidade de uso da estrutura vegetal encontrada, quanto a indicador de táxon dentro da família ou gênero em questão. Raciocínio análogo deve ser feito com relação ao uso de marcadores químicos.

A exemplo da estratégia sugerida por IMPERATRIZ-FONSECA (1989) a ser adotada na programação da produção de pólen e mel, é possível, a longo prazo, a elaboração de uma lista de espécies vegetais atrativas, com o intuito de viabilizar a indicação de locais apropriados para instalação de apiários para produção de própolis, bem como sugestão de reflorestamento com espécies de interesse, além de possibilitar a produção de safras importantes que possam ter maior homogeneidade quanto ao efeito farmacológico apresentado.

Ainda, avaliações quantitativas em termos de espectro de estruturas vegetais presentes em amostras de própolis, para fins de diagnóstico, só devem ser feitas quando houver segurança em termos de amostragem e contagem, não devendo deixar de tecer considerações críticas quanto à possibilidade de superestimação ou subestimação, a exemplo de ponderações efetuadas quanto ao espectro polínico de méis para certificação de origem botânica. Isto possibilitaria inserção diferenciada do produto no mercado.

No entanto, considerando-se a diversidade da flora brasileira potencialmente produtora de matéria-prima para produção de própolis, fica evidente, diante do levantamento ora apresentado que, sem dúvida, os conhecimentos científicos acerca do assunto necessitam ser expandidos. Percebe-se a necessidade de certo redirecionamento das pesquisas nesta área, cujo ponto de partida deve ser o estabelecimento da certificação de origem botânica e mesmo geográfica do produto a ser disponibilizado no mercado, com associação de estudos farmacotoxicológicos. Estas ações, embora denotem certa complexidade, geram maior segurança e critério quanto à obtenção de resultados.

Avaliações da origem botânica da própolis em diferentes regiões não devem ser dissociadas do conhecimento de possíveis variações dos constituintes químicos em função de aspectos fenológicos das

espécies vegetais ou em função da obtenção do produto em diferentes épocas do ano.

Não se pode deixar de considerar o grande potencial do produto como fornecedor de modelos de moléculas a serem testadas como biofármacos. Essas determinações devem estar sempre atreladas a estudos sazonais e de origem (onde e quando obter), pois, em alguns casos, a obtenção de moléculas de interesse farmacológico por síntese artificial torna-se inviável, fazendo-se necessária por conseguinte a obtenção de compostos a partir de técnicas de extração de matrizes naturais complexas, como a própolis. Ainda, o uso da matriz como um todo, é também proveitoso e promissor, considerando-se o possível sinergismo apresentado pelas moléculas que a constituem.

De acordo com ABREU (1997), no que tange ao mercado da própolis, o Brasil pode ser caracterizado como mero exportador de matéria-prima. Os quase US\$ 20 milhões por ano gerados pelas exportações se transformam em cerca de US\$ 350 milhões por ano gerados pelo mercado de produtos industrializados que contêm própolis, só no Japão. Nesse país, as pesquisas quanto à atividade antitumoral, antimicrobiana e antioxidante de compostos derivados da própolis brasileira encontram-se avançadas e vêm apresentando resultados promissores.

As informações ora apresentadas revelam a necessidade de se buscar alternativas para superar a dependência externa. Neste contexto, a própolis surge como um dos possíveis propulsores, podendo incrementar a obtenção de novos compostos e, para isto, estudos que objetivem a determinação da origem botânica e geográfica dos seus constituintes, aliados à sua composição química e efeitos farmacológicos e toxicológicos, tornam-se imperativos, possibilitando segurança na comercialização do produto e uso para homens, animais e plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, J. A. S. Amargando a clandestinidade – Grupo Técnico de Apicultura. Agroanalysis, São Paulo, v.17, p. 32-33, 1997.
- ARAÚJO, A. M., FERNANDES, G. W., BEDÊ, L. C. Influência do sexo e fenologia de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) sobre insetos herbívoros. Rev. Bras. de Entomol., São Paulo, v. 39, n. 2, p. 347-353, 1995.
- ARMBUSTER, W. S. The role of resin in angiosperm pollination: ecological and chemical considerations. Am. J. Bot., Columbus v. 71, p. 1149-1160, 1984.
- ARMBUSTER, W. S., WEBSTER, G. L. Pollination of two species of *Dalechampia* (Euphorbiaceae) in Mexico by Euglossini bees. Biotropica, Pullman, v. 11, p. 278-283, 1979.
- ASIS, M. Propoleo – El oro purpura de las abejas. 1st reimpress. Ciudad de La Habana: Centro de Información y Documentación Agropecuario, 1991. 256 p.
- ASIS, M. Apiterapia para todos. Cómo usar los siete productos de la colmena para curar. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1993. 194 p.
- BANKOVA, V., DYULGEROV, A., POPOV, S. Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin. Apidologie, Paris, v. 23, n.1, p. 79-85, 1992.
- BANKOVA, V., POPOV, S. Phenolics in Albanian poplar buds and their relationship to propolis. Fitoterapia, Milan, v. 65, n. 4, p. 323-330, 1994.
- BANSKOTA, A. H., TEZUKA, Y., PRAISAIN, J. K. et al. Chemical constituents of Brazilian própolis and their cytotoxic activities. J. Nat. Prod., v. 61, p. 896-900, 1998.
- BANSKOTA, A. H., TEZUKA, Y., KADOTA, S. Recent progress in pharmacological research of propolis. Phyt. Res., v. 15, p.1-11, 2001.
- BARROSO, G. Compositae – Subtribo Baccharidinae Hoffmann. Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. Rodriguesia, Rio de Janeiro, ano 28, v. 40, 1976. 273 p.
- BARTH, O. M., DUTRA, V. M. L., JUSTO, R. L. Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil meridional. Ci. Rural, Santa Maria, v. 29, n. 4, p. 663-667, 1999.
- BASTOS, E. M., DEL CARMEN, V., MONTEIRO, E. P. et al. Indicadores da origem botânica da própolis produzida por abelhas *Apis mellifera* em áreas de cerrado do Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, Bahia, 1998. Anais... Salvador: 1998. p. 329
- BASTOS, E. M. A. F. Origem botânica e indicadores de qualidade da “própolis verde” produzida no Estado de Minas Gerais. Ribeirão Preto: Universidade de São

- Paulo/Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, 2001. 137 f. Tese de Doutorado.
- BERMUDEZ, J. A. Z. Indústria farmacêutica, Estado e sociedade. São Paulo: Hucitec, 1995. 204 p.
- BOLDT, P. E., ROBBINS, T. O. Phytophagous and pollinating insect fauna of *Baccharis neglecta* (Compositae) in Texas. Environ. Entomol., College Park, v.16, p. 887-895, 1987.
- BONVEHÍ, J. S., COLL, F. V. Phenolic composition of propolis from China and South America. Zeitschrift fur Naturforsch.,Tubingen, v. 49c, p.712-718, 1994.
- BRASIL. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade do mel e produtos apícolas. Brasília: MAPA/DAS/ DIPOA/DNT, 2001. 27 p.
- BURDOCK, J. S. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. Food and Chem. Toxicol., v. 36, p.347-363, 1998.
- BRONSTEIN, J. L. Conditional outcomes in mutualistic interactions. Tree, v. 9, p. 214-217, 1994.
- CHENG, P. C., WONG, G. Honey bee propolis: Prospects in medicine. Bee World, Buckinghamshire, v. 77, p.8-15, 1996.
- CRANE, E. Bees and beekeeping. Cornell: Cornell University Press, 1990. 614 p.
- CHRISTOV, R., BANKOVA, V., HEGAZI, A. et al. Chemical Composition of Egyptian propolis. Zeitschrift fur Naturforsch., Tubingen, v. 53c, p.197-200, 1998.
- D'ALBORE, G. R. L'origine géographique de la propolis. Apidologie, Paris, v. 10, n. 3, p. 241-267, 1979.
- DANNIEL, K., ELMVIST, T., ERICSON, L. et al. Sexuality in willows and preference by barkeating voles: defense or not? Oikos, Copenhagen, v. 44, p.82-90, 1985.
- DELPH, L. F. Sex-differential resource allocation patterns in the subdioecious shrub *Hebe subalpina*. Ecology, Durham, v. 70, p.1342-1351, 1990.
- DI STASI, L. C. Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1996. 230 p.
- ESAU, K. Anatomía vegetal. Barcelona: Ediciones Omega, 1985. 779 p.
- FAHN, A. Secretory tissues in plants. London: Academic Press, 1979. 302 p.
- FAHN, A. Plant Anatomy. 4.ed. Jerusalem: Hebrew University of Jerusalem, 1990. 588 p.
- FERRACINI, V. F., PARAIBA, L. C. Essential Oils of seven Brazilian *Baccharis* species. J. of Ess. Oil Res., v. 7, p. 355-367, 1995.
- FREIRE, U. C. Origem da própolis verde e preta produzida em Minas Gerais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 50 f. Dissertação de Mestrado
- GARCÍA-VIGUERA, C., FERRERES, F., TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Study of Canadian propolis by GC-MS e HPLC. Zeitschrift fur Naturforsch.,Tubingen, v. 48c, p. 731-735, 1993.
- GARCÍA-VIGUERA, C., GREENAWAY, W., WHATLEY, F. R. Composition of propolis from two different Spanish regions. Zeitschrift fur Naturforsch., Tubingen,v. 47c, p. 634-637, 1992.
- GARY, N. E. Activities and behavior of honey bees. In: GRAHAN, J.M. (Ed.). The hive and the honey bee. Michigan: Chelsea, 1993. p.269-361.
- GERSHENZON, J., MABRY, T. J. Secondary metabolites and higher classification of angiosperms. Nordic J. of Bot., v. 3, n. 1, p. 5-34. 1983.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. Bee World, Buckinghamshire, v.60, p.59-84, 1979.
- GUERRA, M. P., NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMAM, G. (Orgs.). Farmacognosia - da planta ao medicamento. Florianópolis: UFRGS, 2001. p.13-26.
- GREENAWAY, W., SCAYSBROOK, T., WHATLEY, F. R. The analysis of bud exudate of *Populu x euramericana*, and of propolis, by gas chromatography-mass spectrometry. In: ROYAL SOCIETY OF LONDON, London, 1987. Proceedings... London: 1987. p. 249-272.
- GREENAWAY, W., SCAYSBROOK, T., WHATLEY, F. R. The composition and plant origin of propolis: a report of work at Oxford. Bee World, Buckinghamshire, v. 71, p. 107-118, 1990.

- HAHLBROCK, K., SCHEEL, D. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Ann. Rev. Plant Mol. Biol.*, v. 40, p. 347-369, 1989.
- HAUSEN, B. M., WOLLENWEBER, E. Propolis allergy (II). The sensitizing properties of 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester. *Cont. Derm.*, v. 17, p.171-177, 1987.
- HAUSEN, B. M., WOLLENWEBER, E. Propolis allergy (III). Sensitizing studies with minor constituents. *Cont. Derm.*, v. 19, p. 296-303, 1988.
- HAUSEN, B. M., EVERS, P., SRÜWE, H. T. et al. Propolis allergy (IV). Studies with further sensitizers from propolis and constituents common to propolis, poplar buds and balsam of Peru. *Cont. Derm.*, v. 26, p.34-44, 1992.
- HARBORNE, J. B. Comparative biochemistry of the flavonoids. London: Academic Press, 1967.
- HARBORNE, J. B. Perspectives in phytochemistry. London: Academic Press, 1969. 235 p.
- HARBORNE, J. B. Introduction to ecological biochemistry. London: Academic Press, 1988. 223 p.
- IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Considerações sobre ecologia das abelhas sociais. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1989. 109 f. Tese de Livre-Docência.
- JÉANNE, F. La propolis et sa récolte par l'apiculteur. *Bull. Tech. Apic., Sainte-Gauburge*, v. 11, p. 45-46, 1984.
- JOLY, C. A. Programa BIOTA/FAPESP: O desenvolvimento de um modelo para viabilizar a conservação e o uso sustentável da biodiversidade brasileira. In: ENCONTRO DE BOTÂNICOS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BOTÂNICA, 22., Regional MG, BA e ES, 2001. Anais... Viçosa: Sociedade Brasileira de Botânica, 2001. p.66.
- KONIG, B. Plant sources of propolis. *Bee World*, Buckinghamshire, v. 66, n.2, p.136-139, 1985.
- KRISCHIK, V. A., DENNO, R. F. Patterns of growth, reproduction, defense and herbivory in the dioecious shrub *Baccharis halimifolia* (Compositae). *Oecologia*, Heidelberg, v. 83, p. 182-190, 1990.
- LANE, M. A. Pollination biology of *Compositae*. In: *Compositae: Systematics - PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL COMPOSITAE CONFERENCE*, United Kingdom, 1994. Proceedings... Kew: 1994. v.1. p.61-80.
- LARA, A. C. F., FERNANDES, G. W. Distribuição de *Neopelma baccharidis* (Homoptera: Psyllidae) em *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). *Rev.Bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v. 54, p. 661-668, 1994.
- MARCUCCI, M. C., CAMARGO, F. A., LOPES, C. M. A. Identification of amino acids in Brazilian propolis. *Zeitschrift fur Naturforsch.*, Tubingen, v.51c, p. 11-14, 1996.
- MANN, J. Secondary metabolism. 2 ed. Oxford: Clarendon Press. 1987. 374 p.
- MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza: Imprensa Universitária 1988.126 p.
- METCALFE, C. R.. Secretory structures: cells, cavities, and canals - in leaves and stems. In: METCALFE, C. R., CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Clarendon, 1983. v.2, p. 64-67.
- METCALFE, C. R., CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Clarendon. 1979. v.1, 276 p.
- MONTENEGRO, G., TIMMERMANN, B. N., PEÑA, R. et al. Pollen grains and vegetative structures in propolis as indicators of potential drugs in Chilean plants. *Phyton - Int. J. Exp. Bot.*, v. 66, p.15-23, 2000.
- MONTENEGRO, G., PEÑA, R., AVILA, G. et al. Botanical origin and seasonal production of propolis in hive of Central Chile. *Bol. Bot.da USP.*, São Paulo, v. 19, p. 1-6, 2001a.
- MONTENEGRO, G., PEÑA, R., TIMMERMANN, B. N. et al. Botanical resources for propolis in na apiary network in Central Chile. *Phyton -Int. J. Exp. Bot.*, v.50, p. 191-201, 2001b.
- NAGY, E., PÁPAY, V., LITKEY, G. et al. Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoid components, of propolis and *Populi Gemma* by the GC/MS method. In: HUNGARIAN BIOFLAVONOIDS SYMPOSIUM,7.,Szeged,1985. Proceedings...Hungary: Elsevier, 1985. v.23. p. 223-232.
- NAKAMURA, J., OSAWA, H., MATSUKA, M. Utilization of propolis resources by honeybees *Apis mellifera*. In: INTERNATIONAL APICULTURAL CONGRESS,35., Belgium, 1997. Proceedings... Antwerp, Belgium: 1997. p.308-311.
- NORTHENBERG, M. Própolis enfrenta um desafio das pesquisas. *Química e Derivados*, v. 348, p.24-28, 1997.

- OGREN, W. What in the world is propolis used for? *Am. Bee J.*, Hamilton, v.130, n. 4, p. 239-240, 1990.
- OLIVEIRA, V. C., BASTOS, E. M. Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) visando à identificação da origem botânica da própolis. *Acta Bot. Bras.*, v. 12, n. 3, p. 431-439, 1998.
- PALMER, W. A. The phytophagous insect fauna associated with *Baccharis halimifolia* L. and *B. neglecta* Britton in Texas, Louisiana, and northern Mexico. *Proc. Ent. Soc.*, Washington, v. 89, p. 185-199, 1987.
- PARK, Y. K., ALENCAR, S. M., AGUIAR, C. L. Botanical origin and composition of brazilian propolis. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.50, p.2502-2506, 2002.
- PÁPAY, V., TÓTH, L., SOLTÉSZ, M. et al. Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoid components, of propolis and *Populi Gemma* by the GC/MS metho. In: HUNGARIAN BIOFLAVONOID SYMPOSIUM, 7., Szeged, 1985. *Proceedings...* Hungarian: Elsevier, 1985. v. 23, p. 233-240.
- PEREIRA, A. S., SEIXAS, F. R. M. S., NETO, R. A. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas. *Quím. Nova*, v.25, n.2, p. 321-326, 2002.
- PIRES, C. V., TEIXEIRA, E. W., MESSAGE, D. Avaliação de preferência entre plantas de *Baccharis dracunculifolia* por abelhas *Apis mellifera* (africanizadas) para coleta de própolis e determinação de horário e temperatura de maior coleta. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 5., Ribeirão Preto, 2002. *Anais...* Ribeirão Preto: 2002. p.342.
- POPOVA, M., BANKOVA, V., CHIMOV, A. et al. A scientific note on the high toxicity of propolis that comes from *Myroxylon balsamum*. *Apidologie*, Paris, v.33, p. 87-88, 2002.
- POPRAVKO, S. A. Naturaleza química del propoleos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE APITERAPIA, 2., Rumania, 1976. *Anais...* Rumania: Bucarest, 1976. p.188-189.
- ROBBERS, J. E., SPEEDIE, M. K., TYLER, V. E. Pharmacognosy and pharmacobiotechnology. Baltimore: Williams & Wilkinns, 1996. 198 p.
- SANTOS, M. A. Estudo de forrageamento de própolis em abelhas africanizadas, *Apis mellifera* L. 1758. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1996. 59 f. Dissertação de Mestrado.
- SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMAN, E. (Orgs.). *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.333-364.
- SANTOS, M. A., MESSAGE, D. Comportamento de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) na coleta de própolis em colônias de observação e em alecrim (*Baccharis dracunculifolia* D. C.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., Salvador, 1997. *Anais...* Salvador: 1997. p.90.
- SCHNEPF, E. Gland cells. In: ROBARDS, A. W. (Ed.). *Dynamic aspects of plant ultrastructure*. Maidenhead: McGraw-Hill Books., 1974. p.331-357.
- SEELEY, T. D. The wisdom of the hive - The social physiology of honey bee colonies. Harvard: Harvard University Press. 1995. 295 p.
- SEELIGMANN, P. Flavonoids of the Compositae as evolutionary parameters in the tribes which synthesize them: a critical approach. In: INTERNATIONAL COMPOSITAE CONFERENCE, United Kingdom, 1994. *Proceedings...* United Kingdom, Kew, 1994. v.1, p.159-185.
- SILVA, J. B., GROTTA, A. S. Anatomia da folha e óleo essencial de *Baccharis retusa* DC. *Rev. Farm. Bioq. da USP*, São Paulo, v.9, n.2, p.321-326, 1971.
- SIQUEIRA, J. O., NAIR, M. G., HAMMERSCHMIDT, R. et al. Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. *Crit. Rev. Plant Sci.*, v. 10, n. 1, p. 63-121, 1991.
- THEOBALD, W. L., KRAHULIK, J. L., ROLLINS, R. C. Trichome description and classification. In: METCALFE, C. R., CHALK, L. *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford: Clarendon, 1979. v.1, p. 40-53.
- TOMÁS-BARBERÁN, F. A., GARCIA-VIGUERA, C., VITOLIVER, P. et al. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela. *Phytochemistry*, Oxford, v. 34, p. 191-196, 1993.
- VALCIC, S., MONTENEGRO, G., TIMMERMANN, B. N. Lignans from Chilean propolis. *J. Nat. Prod.*, v. 61, p.771-775, 1998.
- VALCIC, S., MONTENEGRO, G., MUJICA, A. M. et al. Phytochemical, morphological, and biological investigations of propolis from Central Chile. *Zeitschrift fur Naturforsch.*, Tubingen, v.54c, p. 406-416, 1999.

- VICKERY, M. L., VICKERY, B. V. Secondary plant metabolism. London: Macmillan Press, 1981. 335 p.
- WARAKOMSKA, Z., MACIEJEWICZ, W. Microscopic analysis of propolis from Polish regions. *Apidologie*, Paris, v. 23, p.277-283, 1992.
- WILSON, M. F. Sexual selection in plants. *Am. Nat.*, Chicago, v.113, p.777-790, 1979.
- WINK, M. Physiology of secondary product formation in plants. In: CHARLWOOD, B. V., RHODES, M.J.C. (Ed.). Secondary products from plant tissue culture. Oxford: Clarendon, 1990. p.67-86.