

ASPECTOS MORFO-ANATÔMICOS DA FOLHA DE *BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA* DC. (ASTERACEAE) VISANDO A IDENTIFICAÇÃO DA ORIGEM BOTÂNICA DA PRÓPOLIS

Virginia del Carmen Oliveira¹
Esther Margarida Bastos¹

Recebido em 28/01/1999. Aceito em 21/06/1999

RESUMO – (Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) visando a identificação da origem botânica da própolis). Foi estudada a anatomia da folha, em diferentes fases de desenvolvimento, a partir do ápice caulinar, de *B. dracunculifolia* para caracterizar as estruturas secretoras e tricomas que podem ser utilizados como indicadores na determinação da origem botânica da própolis produzida por *Apis mellifera*. O material foi coletado no Município de Jaboticatubas, MG, onde estão instaladas colméias experimentais. A espécie estudada apresenta primórdios foliares densamente recobertos por tricomas glandulares e tectores. Os tricomas glandulares são freqüentes em folhas jovens e raros em folhas adultas. A folha adulta é anfi-estomática. O mesófilo é composto por parênquima paliádico, escasso parênquima lacunoso e canais secretores associados ao floema. Os fragmentos foliares, estômatos, tricomas glandulares e tricomas tectores encontrados em amostras de própolis são semelhantes aos observados em folhas de *B. dracunculifolia*.

Palavras-chave – *Baccharis*, anatomia foliar, própolis

ABSTRACT – (Morphological and anatomical aspects of the leaf of *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) as regards to the identification of the botanical origin of propolis). The leaf anatomy of *B. dracunculifolia*, in different developmental stages, was studied, with the purpose of characterizing the secretory structures that can be used as indicators for determining of the botanical origin of propolis produced by *Apis mellifera*. The material was collected in the Municipal district of Jaboticatubas, Minas Gerais State, where experimental hives were installed. The studied species are characterized by having the surface of the youngest leaves densely covered by glandular and non-glandular trichomes. The glandular trichomes are abundant in the early stages of leaf growth and uncommon in mature leaves. The mature leaf is amphistomatic. The mesophyll consists of palisade cells, scarce spongy parenchyma and secretory ducts associated to the phloem. The leaf fragments, stomata, glandular trichomes and non-glandular trichomes present in propolis samples are similar to those found in *B. dracunculifolia* leaves.

Key words – *Baccharis*, leaf anatomy, propolis

¹ FUNED, Laboratório de Microscopia e Palinologia, C. Postal 26, CEP 30161-970, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução

A própolis é uma substância de composição complexa, formada por material resinoso, gomoso ou balsâmico, coletado por abelhas em brotos de árvores ou em outras partes do vegetal, e modificado na colméia pela adição de secreções salivares e cera (Köning 1985). É empregada no reparo de frestas ou danos à colméia e na mumificação de insetos invasores (Ghisalberti 1979). A utilização da própolis pelo homem remonta há milênios, sendo conhecida pelas suas propriedades farmacológicas, sobretudo pelo efeito antibacteriano (Kujumgiev *et al.* 1993).

Segundo Crane (1990), entram na composição da própolis 156 constituintes já identificados. Os compostos fenólicos constituem mais de 50% do peso total (Isanov 1987). A coloração da própolis, que é dada pela presença de flavonóides (Ghisalberti 1979), vai desde o amarelo-esverdeado até o marrom-escuro, sendo que esta variação é dependente de sua origem e da idade.

Há poucas referências na literatura sobre as espécies fornecedoras de resina para a produção de própolis (Ghisalberti 1979; Köning 1985; Crane 1990). Na Europa, as abelhas coletam resinas, principalmente, de gemas e cascas de álamo (*Populus*), *Betula*, amieiro (*Alnus*), carvalho (*Quercus*) e salgueiro (*Salyx*). Nos Estados Unidos, as abelhas buscam resinas de álamo e pinheiro; no sul da África, de *Populus deltoides*, uma planta exótica da América do Norte e da endêmica *Acacia karroo*. Nas ilhas do Havaí, as principais fontes de própolis são os botões e as cascas de jasmim-manga (*Plumeria*), embora as abelhas também colem resinas de *Eucalyptus* introduzido da Austrália, e da aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e goiabeira (*Psidium guajaba*), ambas introduzidas da América do Sul.

Pouco se sabe sobre as espécies fornecedoras de resina para a produção de própolis na América do Sul, e tampouco sobre as estruturas secretoras e as secreções dessas plantas, principalmente as nativas.

No sedimento sólido da própolis podem ser encontrados grãos de pólen, tricomas glandulares, tricomas tectores, fragmentos de epiderme, complexos estomáticos, etc. Essas estruturas podem ser comparadas com as observadas nas espécies da flora localizada ao redor dos apiários (Vanhaelen & Vanhaelen-Fastré 1979; Warakomska & Maciejewicz 1992).

Nas amostras da própolis de *Apis mellifera*, encontradas no Chile (Montenegro *et al.* 1996), foram identificadas estruturas vegetais de espécies pertencentes a diferentes famílias, como Myrtaceae, Anacardiaceae, Asteraceae, entre outras, como prováveis fornecedoras de resina.

B. dracunculifolia (vassourinha, alecrim do campo ou alecrim de vassoura) ocorre da região sudeste à sul do Brasil e se estende até a Argentina, Uruguai, Paraguai e Bolívia (Barroso 1976); é comum em cerrados, pastagens abandonadas e áreas de sucessão. A floração nesta espécie, como em outras do gênero, ocorre após o período de chuvas (Boldt *et al.* 1988).

Algumas espécies de *Baccharis* são eficientes hospedeiras de insetos herbívoros e polinizadores por permanecerem verdes e em floração durante o ano todo (Boldt 1989); apresentam também a mais alta diversidade de insetos galhadores na região tropical (Fernandes *et al.* 1994).

Diversas espécies de *Baccharis* produzem compostos químicos que estão sob investigação devido a sua importância médica e etnobotânica. Bandoni *et al.* (1978) e Palácios *et al.* (1983) verificaram que dois flavonóides, extraídos de *B. crispa* e *B. notoserigila*, possuem atividade antimicótica. No sudeste brasileiro, o óleo extraído de folhas e caules de *B. dracunculifolia* e *B. genistelloides* são utilizados como fragrância (Bauer *et al.* 1978).

O presente trabalho tem como objetivo constatar a presença de *B. dracunculifolia* na própolis produzido por abelhas *Apis mellifera*, em áreas de cerrado do Estado de Minas Gerais, através da análise microscópica de folhas jovens e adultas.

Material e métodos

Material estudado – Foram estudados espécimes de *Baccharis dracunculifolia* DC. que ocorrem no Município de Jaboticatubas (Minas Gerais), onde estão instaladas colméias experimentais. As coletas foram feitas entre os períodos das chuvas, em estádios de crescimento vegetativo. O material coletado está depositado no Herbário do Departamento de Botânica da UFMG, sob o número BHCB 41396.

Área de estudo - As populações estudadas localizam-se na Serra do Cipó, no Município de Jaboticatubas, na região geográfica Metalúrgica (19°31'18" S e 43°44'35" W), com altitude máxima de 1.697m. Os espécimes estudados localizam-se principalmente em terreno desmatado devido à interferência antrópica.

Estudo anatômico - Ápices caulinares vegetativos e folhas de comprimentos variados foram fixados em FAA 50 e posteriormente submetidos à desidratação em série butílica terciária (Johansen 1940) e à infiltração com Paraplast (Sherwood Medical), seguida da inclusão. O material incluído foi seccionado transversalmente com 12-18µm espessura, em micrótomo rotativo, preparado em lâminas, desparafinado com xilol e corado com safrablau (Bukatsch 1972). A montagem foi feita com resina sintética. Foram preparadas dissociações epidérmicas de folhas do 5º nó, abaixo do ápice do ramo, pelo método de Jeffrey (Johansen 1940), que foram coradas pela fucsina e azul de astra (Roeser 1962) e montadas em gelatina glicerinada.

Foi analisado o sedimento sólido da própolis, através da microscopia óptica, de amostras coletadas de colméias experimentais no período de abril/95 a outubro/96.

As ilustrações foram feitas com auxílio de câmara-clara acoplada a microscópio, com projeção da escala micrométrica. Fotomicroscópio Olympus CBA portador de câmara fotográfica Olympus PM-6 foi utilizado para a obtenção de fotomicrografias.

Resultados e discussão

Em estádios iniciais de desenvolvimento, as folhas de *B. dracunculifolia* possuem numerosos tricomas tectores e tricomas glandulares, tanto na superfície abaxial como na adaxial (Fig. 1).

O primórdio foliar não possui diferenciação no que concerne ao mesofilo, sendo composto, em seção transversal, por tecido homogêneo de células arredondadas, com paredes finas. Em fases posteriores de desenvolvimento, aparecem ductos secretores

associados aos feixes vasculares, tanto na nervura principal quanto nas secundárias. A diferenciação dos ductos secretores antecede a dos feixes vasculares (Fig. 2).

Em folhas adultas, a epiderme em corte transversal, em ambas as superfícies, é uniestratificada (Fig. 3). O mesofilo é isobilateral, com duas camadas de parênquima paliçádico junto às epidermes e 1-2 camadas de parênquima lacunoso compacto na porção central, onde se encontram os feixes vasculares colaterais. Associado ao floema observa-se um canal secretor, do tipo esquizógeno. O feixe vascular da nervura central, em corte transversal, está envolvido por duas calotas de fibras, uma adaxial e a outra abaxial, e por várias camadas de colênquima. Ocorrem 2-3 canais secretores do tipo esquizógeno, ao lado das fibras do floema (Fig. 3).

Os estômatos possuem câmaras subestomáticas desenvolvidas e projeções cuticulares sobre o poro. As células subsidiárias são volumosas e se projetam abaixo das células-guarda. (Fig. 4).

Os tricomas glandulares iniciam seu desenvolvimento a partir de uma divisão anticlinal de uma célula epidérmica, que estabelece a natureza bisseriada desta estrutura (Fig. 5). Após aumento em volume da região distal, cada uma dessas células divide-se formando outras quatro, por divisão periclinal (Fig. 6-7); sucessivas divisões periclinais dão origem a um tricoma glandular formado por 6-8 células distais e duas basais, coberto por cutícula e com citoplasma denso (Fig. 8-9).

Os tricomas tectores têm forma de T, com pedúnculo pluricelular e uma célula apical periclinalmente alongada, com paredes espessadas (Fig. 10).

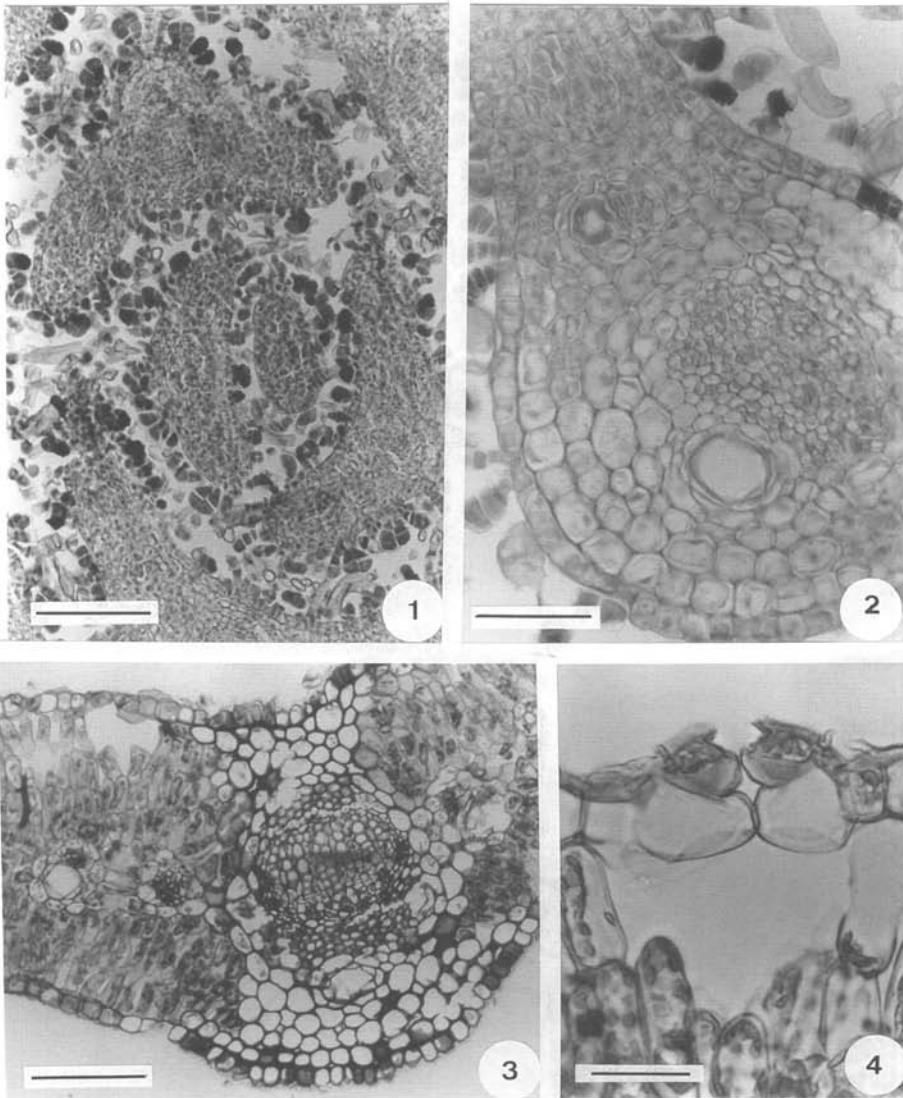
Em amostras de sedimento de própolis podem ser observados tricomas glandulares e tectores, estes últimos geralmente quebrados, ocorrendo grande número de pedúnculos pluricelulares isoladas (Fig. 11 e 13). Tais tricomas apresentam a mesma estrutura daqueles encontrados em folhas de *B. dracunculifolia* (Fig. 6 e 8).

A epiderme foliar de *B. dracunculifolia*, com células de paredes delgadas, retas, penta ou hexagonal e com tricomas agrupados e distribuídos uniformemente pelo limbo (Fig. 14), é idêntica em estrutura aos fragmentos encontrados em amostras de própolis (Fig. 15).

Não foram observados fragmentos foliares com feixes vasculares ou canais secretores desenvolvidos em amostras de própolis, indicando que as abelhas coletam a resina produzida pelos tricomas glandulares localizados nos ápices vegetativos, com o auxílio de suas pernas e partes bucais, carregando junto fragmentos de epiderme e tricomas de cobertura.

Os numerosos tricomas glandulares, que recobrem os ápices vegetativos axilares e apicais em *B. dracunculifolia*, proporcionam abundante secreção do tipo resinoso. Essas secreções, segundo Castro (1987), contém substâncias lipofílicas, taninos e polissacarídeos, freqüentes em tricomas e ductos de espécies de Asteraceae (Fahn 1979).

Materiais lipofílicos secretados pelas plantas consistem em variedade de compostos, incluindo terpenos, óleos essenciais, resinas, ceras, gorduras e flavonóides agliconas (Schnepf 1974). De acordo com Fahn (1988), o material lipofílico é secretado por várias estruturas secretoras: idioblastos, células solitárias (células de óleo de *Laurus*), tricomas (tricomas glandulares de Labiatae), cavidades (cavidades de óleo essencial das Rutaceae) e ductos (ductos de resina de *Pinus*).



Figuras 1-4. *Baccharis dracunculifolia* 1. Folhas em estádios iniciais de desenvolvimento, agrupadas ao redor do ápice do caule, com numerosos tricomas (barra = 10 μ m). 2. Folha jovem com ductos secretores desenvolvidos e mesofilo homogêneo (barra = 50 μ m). 3. Seção transversal da região mediana da folha adulta (barra = 100 μ m). 4. Detalhe do estômato (barra = 20 μ m).

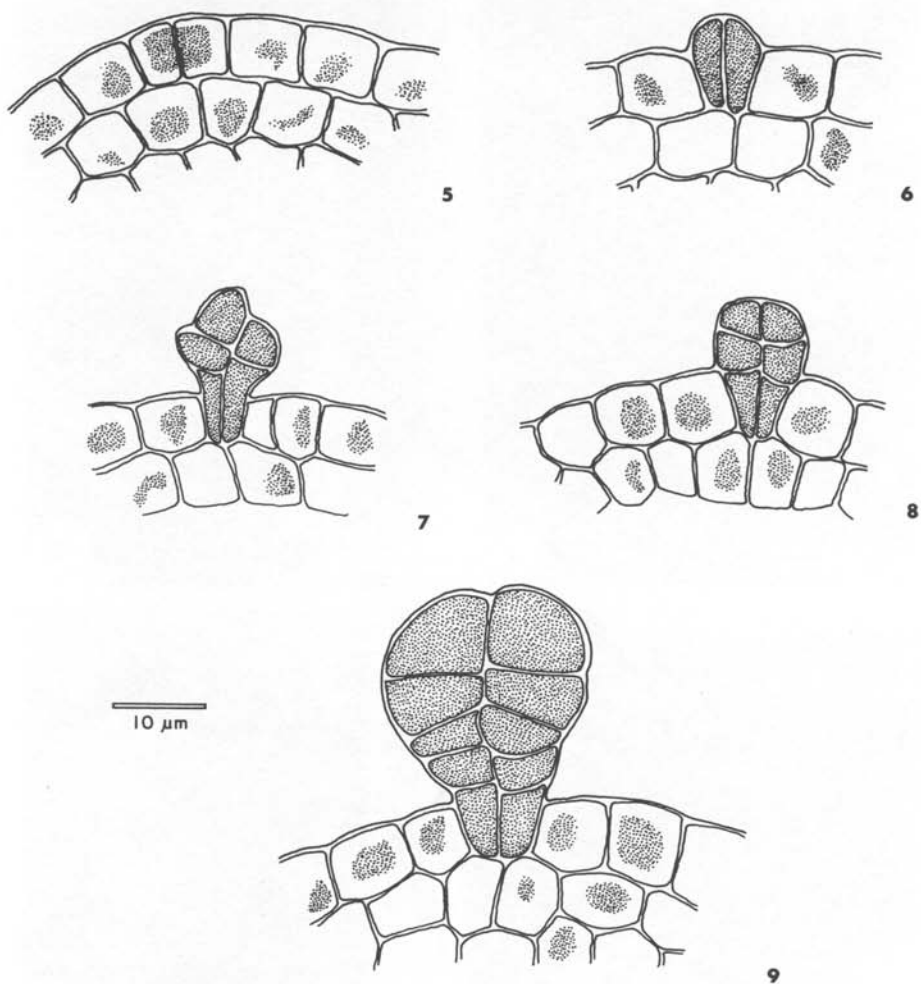
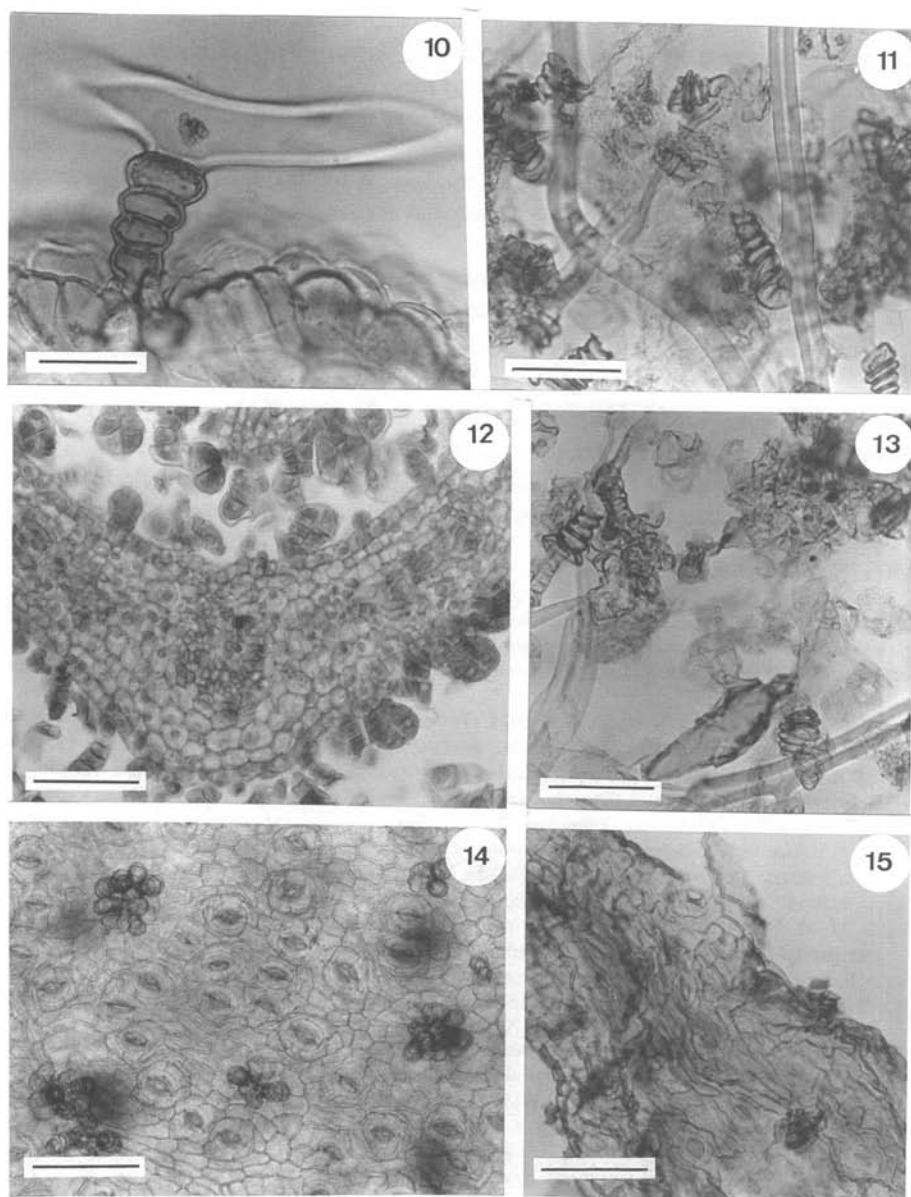


Figura 5-9. *Baccharis dracunculifolia*. Desenvolvimento do tricoma glandular, a partir de uma célula epidérmica do primórdio foliar.



Figuras 10-15. 10. Tricoma tector de *Baccharis dracunculifolia* (barra = 40 μ m). 11. Amostras de sedimento s31ido de pr31opis (barra = 20 μ m). 12. Folha jovem de *B. dracunculifolia* com numerosos tricomas glandulares (barra = 20 μ m). 13. Amostra de sedimento s31ido de pr31opis (barra = 20 μ m). 14. Epiderme foliar de *B. dracunculifolia*, em vista frontal, com est31omas e tricomas agrupados (barra = 10 μ m). 15. Fragmentos de epiderme encontrados em amostras de pr31opis (barra = 10 μ m).

Secreções resinosas externas proporcionam resistência foliar e proteção às gemas vegetativas axilares e apicais, em regiões áridas; já secreções internas parecem estar mais relacionadas à defesa contra o ataque de insetos (Dell & McComb 1978).

Outros trabalhos têm sido realizados em países de América do Sul, com o objetivo de conhecer as espécies fornecedoras de resina para a produção de própolis em *Apis mellifera*, analisando tipos diferentes de tricomas e fragmentos de epiderme como elementos indicadores das espécies visitadas pelas abelhas (Tomás Barberán *et al.* 1993; Montenegro *et al.* 1996).

Dando continuidade ao trabalho, estudos fitoquímicos estão sendo desenvolvidos para confirmar o grau de importância desta espécie como principal fonte de resina.

Agradecimentos

À equipe do Laboratório de Microscopia e Palinologia da FUNED, pela colaboração na realização desta pesquisa; à Dra. Graziela M. Barroso, pela identificação dos materiais estudados; à FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais), pelos recursos financeiros que possibilitaram a elaboração deste trabalho.

Referências bibliográficas

- Bandoni, A. J.; Medina, R. & Coussio, J. 1978. Genus *Baccharis* L. 1: Phytochemical analysis of a non polar fraction from *B. crispa* Sprengel. **Planta Medica** 34: 328-331.
- Barroso, G. 1976. Compositae: Subtribo Baccharidinae Hoffmann. Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. **Rodriguésia** 40: 7-273.
- Bauer, L., Silva; Siqueira, N. & Bacha, C. S. 1978. Os óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia* DC e *B. genistelloides* Pers. do Rio Grande do Sul. **Revista do Centro de Ciência da Saúde** 6: 7-12.
- Boldt, P. E. 1989. *Baccharis* (Asteraceae): a review of its taxonomy, phytochemistry, ecology, economic status, natural enemies and the potencial for its biological control in the United States. USDA, Agricultural Research Service, Texas.
- Boldt, P. E. Woods, W. & Robbins, T. O. 1988. Phytophagous insect fauna of *Baccharis sarathroides* (Asteraceae) in Arizona and New Mexico. **Proceedings of the Entomological Society of Washington** 90: 207-215.
- Bukatsch, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos** 61(8): 255.
- Castro, M. M. 1987. Estruturas secretoras em folhas de espécies da família Asteraceae: aspectos estruturais e histoquímicos. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Crane, E. 1990. **Beekeeping science practice and world resource**. Reineman, London.
- Dell, B. & McComb, A. J. 1978. Plant resins: their formation and possible functions. **Advances in Botanical Research** 6: 277-316.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. Academic Press Inc., London.
- Fahn, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist** 108: 229-257.
- Fernandes, G. W.; Lara, A. C. F. & Price, P. W. 1994. The geography of galling insects and the mechanisms resulting in patterns. In: W. J. Mattson; Y. Baranchikov & P. W. Price (Eds.), **Gall-forming insects: ecology, physiology and evolution**. United States Department of Agriculture, Virginia.
- Ghisalberti, E. L. 1979. Propolis: a review. **Bee World** 60: 59-84.
- Isanov, Z. 1987. A study on some components and physical and chemical properties of propolis and bee wax. **Shivotmovadim Nauki** 4: 84-88.
- Johansen, D. A. 1940. **Plant microtechnique**. Mc Graw Hill, New York.
- Köning, B. 1985. Plant sources of propolis. **Bee World** 66(4): 136-139.
- Kujumgiev, A.; Bankova, V.; Ignatova, A. & Popov, S. 1993. Antibacterial activity of propolis, some of its component and their analogs. **Pharmazie** 48: 785-786.
- Montenegro, G.; Mujica, A. M. & Timmermann, B. N. 1996. The structure of the pollen grains and trichomes as indicators of the specific. **Molecular Biology of the cell** 7(suppl.) 329 A.

- Palacios, P.; Gutkind, G.; Rondina, R.; de Torres, R. & Coussio, J. 1983. Genus *Baccharis* II. Antimicrobial activity of *B. crispa* and *B. notosergha*. **Planta Medica** **49**: 128.
- Roeser, K. R. 1962. Die nadel der schwarzkiefer massenprodukt und kunstwerk der natur. **Mikrokosmos** **61**(2): 33-36.
- Schnepf, E. 1974. Gland cells. Pp. 331-357. In: A. W. Robards, (Ed.), **Dynamic aspects of plant ultrastructure**. McGraw Hill, London.
- Tomas Barberan, F. A.; García Viguera, C.; Vit Oliveira, P.; Ferreres, F. & Tomas Lorente, F. 1993. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela. **Phytochemistry** **34**: 191-196.
- Vanhaelen, M. & Vanhaelen-Fastré, R. 1979. Própolis - I. Origine, micrographie, composition chimique et activité thérapeutique. **Journal de Pharmacie de Belgique** **34**(5): 252-259.
- Warakomska, Z. & Maciejewicz, W. 1992. Microscopic analysis of propolis from Polish regions. **Apidologie** **23**: 277-283.