

Análise palinológica de geoprópolis do Brasil, da Bolívia e Venezuela: uma revisão

Ortrud Monika Barth, Alex da Silva de Freitas

Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Avenida Brasil 4365, CEP 21040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
E-mails: barth@ioc.fiocruz.br, alexsilfre@gmail.com

Resumo: É apresentada uma revisão dos resultados obtidos pela análise polínica/palinológica de amostras de geoprópolis elaboradas por diversas espécies de abelhas sem ferrão e procedentes do Brasil, da Bolívia e Venezuela. Foram analisadas quanto à presença de grãos de pólen e demais elementos figurados presentes em seus sedimentos, tais como hifas e esporos de fungos, fragmentos de tecidos vegetais, matéria orgânica amorfa, fragmentos de areia, barro e argila e resinas. A análise polínica de geoprópolis permite reconhecer a vegetação local e regional dentro do raio de ação das abelhas. Estas análises fornecem dados que devem subsidiar as análises físico-químicas de geoprópolis e que, em conjunto, definem a qualidade do produto.

Palavras chave: Abelhas sem ferrão, Análise palinológica, Vegetação.

Palynological analysis of Brazilian geopropolis: a review

Abstract: A review of the results obtained by pollen/palynological analysis of geopropolis samples is presented. The samples were obtained from several species of stingless bees and were originally from Brazil, Bolivia and Venezuela. They were analysed with regard to the presence of pollen grains and other figurative elements contained in geopropolis sediments, such as hyphae and fungal spores, fragments of plant tissue, amorphous organic matter, fragments of sand or clay and resin. Pollen analysis of geopropolis allows recognizing the local and regional vegetation within the radius of action of bees. These tests provide data to support the physicochemical analysis of geopropolis and which in combination, define the quality of the product.

Key words: Stingless bees, Pollen analysis, Vegetation.

Introdução

As Meliponini são abelhas sociais que vivem em países tropicais e subtropicais. Elas são altamente especializadas na polinização da vegetação nativa e são consideradas ora generalistas quanto à coleta de pólen e néctar por alguns autores (Ramalho et al. 2007), ora persistentes quanto à visita de floradas específicas (Bazlen, 2000 & Barros et al., 2013).

Seus ninhos ficam alocados nos mais diversos ambientes, tanto no solo, quanto em muros, árvores e outros objetos ocultos como canos e tubos. Seu material de construção compreende cerumem, uma mistura de cera e resina, na fabricação dos potes para estocagem de mel e pólen e dos favos de cria (Nogueira, 1953, 1997). Além disto estas abelhas fabricam geoprópolis, uma mistura de cera, resina e argila, barro ou mesmo terra (Barth & Luz, 2003). Constitui-se num produto mais resistente, empregado na construção das paredes dos próprios ninhos, incluindo as vias de entrada de formatos variáveis e muitas vezes espécie específicas. Geoprópolis serve para atenuar danos mecânicos aos ninhos e selar as colmeias, atuando também como um agente de termorregulação, evitando a exposição excessiva a correntes aéreas e à infestação de colônias por outros agentes (Teixeira et al., 2003).

A resina de exsudados vegetais é originária de diversas espécies vegetais trazendo em anexo principalmente os grãos de pólen. A geoprópolis difere de própolis elaborada pelas abelhas *Apis mellifera* pela presença de partículas de argila, barro ou terra e ausência de tricomas vegetais (Barth & Luz, 2003). Em dependência da qualidade da resina e da quantidade de conteúdo mineral, algumas amostras de geoprópolis podem apresentar-se mais ou menos flexíveis, maleáveis e quebradiças quando comparadas com amostras de própolis.

Grãos de pólen fazem parte de geoprópolis com cerca de 5% (Barth & Luz, 2003), ao lado de outros elementos estruturados como minerais, solos, fragmentos de tecidos vegetais, esporos e hifas de fungos e matéria orgânica amorfa. Depois de submeter amostras de geoprópolis a um tratamento químico, os espectros polínicos resultantes podem conter pólen de plantas nectaríferas, poliníferas e anemófilas. Desta maneira, a análise polínica é uma ferramenta

valiosa para informar a origem fitogeográfica de geoprópolis, podendo assinalar diferentes regiões produtivas (Barros et al., 2013, Barth & Luz, 2003, Barth, 2006), bem como definir o potencial apícola de uma região ou área.

As abelhas sem ferrão competem por recursos alimentares com abelhas do gênero *Apis*. A superposição de alguns recursos florais usados por ambos podem interferir no desenvolvimento das Meliponini (Barth et al., 2013, Freitas et al., 2013, Ramalho et al., 2007, Roubik, 1978 & Schaffer et al., 1983). Propriedades biológicas e farmacológicas de geoprópolis mostraram sua atividade antibacteriana e antioxidante e uma grande concentração de flavonóides (Bankova, Popova, 2007, Dutra et al., 2008, Manrique & Santana, 2008).

A presente revisão visa apresentar os atuais dados obtidos através da análise palinológica de amostras de geoprópolis coletadas em alguns países sulamericanos, fornecendo suporte para o controle de qualidade e informação aos apicultores.

Material e métodos

Amostras de geoprópolis são recolhidas em geral dos tubos de entrada dos ninhos bem como por raspagem das paredes de caixas de criação de meliponas, eliminando-se detritos grosseiros e macroscópicos. Uma metodologia padrão foi desenvolvida para o processamento palinológico das amostras de geoprópolis por Barth (1998). Cerca de 0,5 g de geoprópolis raspada limpa é extraída durante uma noite com etanol. Em seguida é tratada a quente com KOH, ultrassom e peneirado para eliminar fragmentos grandes. Nesta etapa são montadas duas lâminas de microscopia com glicerina gelatinada para observação de resíduos orgânicos que poderiam ser destruídos em seguida pela aplicação da acetólise (Erdtman, 1952). Mais duas lâminas adicionais são preparadas, sendo uma delas corada com fucsina básica. O processo de contagem dos elementos figurados presentes nestas preparações deve compreender mais de 300 grãos de pólen para cada amostra.

Os tipos polínicos são identificados utilizando literatura específica (Barth, 1989,

Roubik & Moreno, 1991, Vit, 2005) e lâminas de referência. A definição de classes de pólen segue Zander (Louveaux et al., 1978) nas análises qualitativas e quantitativas. É aconselhável a utilização de luz polarizada visando o reconhecimento de cristais, minerais, barro, pêlos e cera.

Resultados e discussão

A análise palinológica de geoprópolis das abelhas sem ferrão foi poucas vezes realizada quando comparada com a de própolis de *Apis*. Outros produtos por elas elaborados, tais como mel e pólen de suas cargas tiveram uma maior abrangência.

Amostras do Brasil

Iniciando a investigação sobre o pólen contido em geoprópolis, um conjunto de 10 amostras provenientes dos Estados de São Paulo (5), Espírito Santo (1) e Minas Gerais (4) foi analisado por Barth e Luz (2003). Os espectros polínicos raramente apresentam pólen de um só táxon predominante. Em uma das amostras obtidas em São Paulo, foi encontrado como pólen predominante o de *Eucalyptus* (Myrtaceae). Já em Minas Gerais, numa amostra de *Tetragonisca angustula*, Latreille predominava *Schinus* (Anacardiaceae). Na amostra do Estado do Espírito Santo, elaborada por *Melipona quadrifasciata*, Lepeletier ocorreram dois tipos polínicos na quantidade de pólen acessório, *Combretum*/ Melastomataceae e *Myrcial*/ Myrtaceae.

Um conjunto de seis amostras de geoprópolis de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, foram analisadas por Barth (2006). Coletadas em um mesmo dia, mas provenientes de diferentes espécies de abelhas dentro de um único apiário, apresentaram uma grande diversidade de grãos de pólen. Pólen de *Eucalyptus* como predominante foi detectado somente em geoprópolis de *T. recursa*, Smith e como acessório nas amostras elaboradas por *Lestrimellita limao*, Smith e *Nanotrigona testaceicornis*, Lepeletier. Esta última ainda apresentou como pólen acessório o de *Piper* (Piperaceae). *M. quadrifasciata* apresentou como acessório o tipo polínico *Mimosa scabrella*, Benth (Mimosaceae) e *T. angustula* o de *Cecropia*/ (Cecropiaceae). Estes dados indicam

uma preferência de forrageamento dependente da espécie de abelhas, ocorrendo em uma vegetação bastante heterogênea no entorno do apiário e, no caso, com forte influência antrópica. Todas as amostras de Ribeirão Preto continham material orgânico marrom amorfo, menos frequente nas demais amostras. Grãos de areia foram encontrados em quase todas as amostras, com exceção das amostras de geoprópolis produzidas por *N. testaceicornis* e *Frieseomelita varia* Lepeletier, (Barth, 2006).

Barth et. al, (2009) realizaram estudos palinológicos detalhados em quatro amostras de geoprópolis arqueológico obtidas na região de Januária, Estado de Minas Gerais. Foram produzidas pelas abelhas nativas muito tempo antes da introdução da abelha europeia (*Apis mellifera* L.) no Brasil. Diferentes tipos de vegetação puderam ser reconhecidos através dos respectivos espectros polínicos. Em uma das amostras, a expressiva presença de plantas higrófilas (*Chrysophyllum*/Sapotaceae, *Cedrela*/Meliaceae, *Cuphea*/Lythraceae, *Ludwigia*/Onagraceae e Myrtaceae) caracterizou uma mata ciliar de calha de rio. Uma vegetação herbácea, incluindo alguns táxons indicativos de solos úmidos (*Cuphea thymoides*/Lythraceae), juntamente com os de árvores, indicou uma paisagem de campo com moitas arbóreas. A falta de plantas indicadoras de solo úmido e a presença de várias espécies de palmeiras caracterizaram uma das amostras como proveniente de uma paisagem seca e aberta.

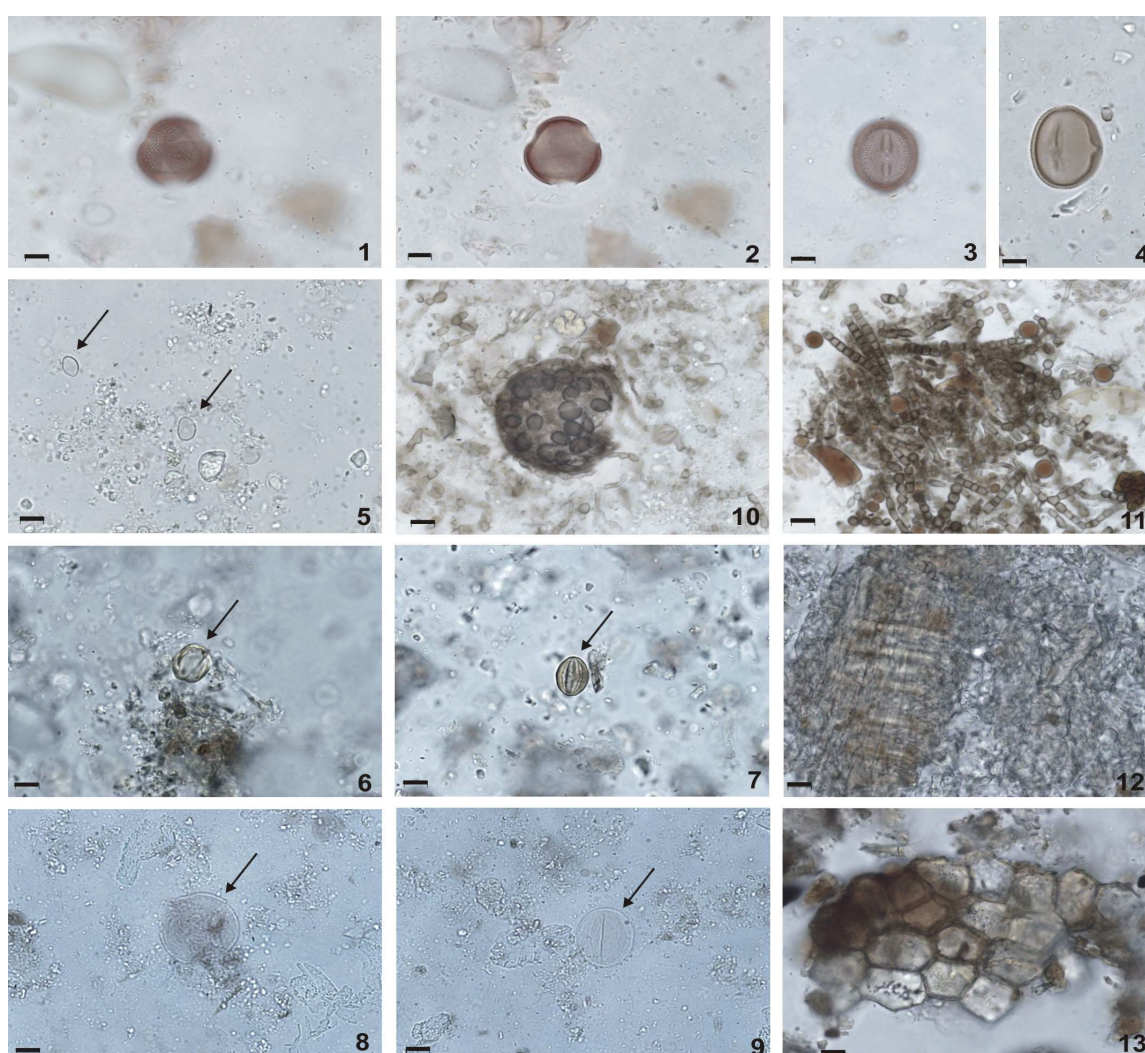
Um interessante estudo de 16 amostras de geoprópolis de *M. fasciculata*, procedentes de três áreas distintas do litoral do Estado do Maranhão, Brasil (Barros et al., 2013), caracterizou e distinguiu a respectiva vegetação por meio da análise polínica. Predominou o pólen de *Mimosa caesalpiniaefolia*, Benth e *Mimosa pudica*, Lineu (= tipo polínico *M. scabrella*) na região de Palmeirândia, bem como em Barreirinhas adicionado com o de *Chamaecrista* (Caesalpinaceae) e *Myrcial*/*Psidium* (Myrtaceae). Tanto o dendrograma de similaridade quanto a análise dos componentes principais (PCA) mostraram que a vegetação representada nas quatro amostras de Palmeirândia (vegetação sujeita a inundações) eram bem mais parecidas com as quatro de Barreirinhas (vegetação de cerrado) do que com as oito de Belágua (vegetação de restinga).

Amostras da Bolívia

Três das quatro amostras de geoprópolis bolivianas analisadas por Freitas et al. (2012) eram de *Scaptotrigona*. Das duas de *S. depilis* uma apresentou pólen predominante de *Cecropia* e *S. polystica* somente pólen acessório de *Inga*. Em uma amostra de *Melipona grandis*, Guérin-Méneville o pólen predominante era de uma

Solanaceae. Na quantidade de pólen acessório ocorreram ainda o de *Eucalyptus* e de uma Rubiaceae. Os tipos polínicos reconhecidos nas amostras de geoprópolis de *Scaptotrigona* não foram encontrados na amostra de *Melipona*, representando a diversidade de forrageamento das abelhas nativas. Areia ou argila e hifas e esporos de fungos estavam sempre presentes.

Figura 1 - Grãos de pólen predominantes e elementos estruturais adicionais em sedimentos de geoprópolis. Figs. 1-4: *Melochia* (Sterculiaceae); 1-2: vista polar; 3-4: vista equatorial. Fig. 5: *Cecropia* (Cecropiaceae) (setas). Figs 6-7: Melastomataceae (setas); 6: vista oblíqua; 7: vista equatorial. Figs. 8-9: *Solanum* (Solanaceae) (setas); 8: vista polar; 9: vista equatorial. Figs. 10-13: elementos estruturados; 10: esporos de fungos; 11: hifas; 12-13: tecido vegetal. Escala = 10µm.



Amostras da Venezuela

Entre as oito amostras venezuelanas analisadas (Freitas et al., 2012), apenas uma de três amostras de *Trigona clavipes*, Fabricius

apresentou pólen dominante de *Melochia* (Sterculiaceae). Nas demais (uma de *L. limao* uma de *Scaptotrigona* sp. e três de *Melipona favosa*, Fabricius) não haviam predominância de

nenhum tipo polínico e continham pólen acessório de *Cassia* (Caesalpinaceae), *Crotalaria* (Fabaceae), *Didymopanax* (Araliaceae), Melastomataceae, *Myrcia*, Rubiaceae, *Tabebuia* (Bignoniaceae) e de uma Fabaceae desconhecida. Em todas estas amostras foi reconhecido um grande número de tipos polínicos na quantidade de pólen isolado. Areia ou argila estavam sempre presentes. Os demais elementos figurados não eram constantes em todas as amostras. A presença de resina foi observada na maioria das amostras da Venezuela.

Conclusão

A análise palinológica de geoprópolis detectou sempre uma grande diversidade de vegetação em torno dos meliponários e forneceu informações sobre os recursos vegetais utilizadas pelas abelhas nas respectivas localidades. Estes estudos, combinados com análises físico-químicas, são uma ferramenta importante para uma melhor caracterização e certificação de geoprópolis das abelhas nativas, definindo em conjunto a qualidade do produto. Podem dar suporte aos meliponicultores a fim de utilizar espécies de abelhas nativas adaptadas à sua região e produzir um mel que possa um dia ser certificado.

Agradecimentos

Pela obtenção das amostras agradecemos à Dra. Patricia Vit, ao Dr. Lionel S. Gonçalves e à Dra. Ildenize Cunha; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasil, pelo apoio financeiro incluindo uma bolsa de produtividade em pesquisas para a primeira autora (Proc. 301525/2009-9).

Referências

- Bankova, V. & Popova, M. (2007). Propolis of stingless bees: a promising source of biologically active compounds. *Pharmacognosy Reviews*, (1) 88-92.
- Barros, M. H. M. R., Luz, C. F. P. & Albuquerque, P. M. C. (2013). Pollen analysis of geopropolis of *Melipona* (*Melikerria*) *fasciculata* Smith, 1854 (*Meliponini*, *Apidae*, *Hymenoptera*) in areas of Restinga, Cerrado and flooded fields in the state of Maranhão, Brazil. *Grana*, (52) 81–92.
- Barth, O. M. (1989). *O Pólen no Mel Brasileiro* (151p). Rio de Janeiro, Editora Luxor.
- Barth, O. M. (1998). Pollen analysis of Brazilian propolis. *Grana*, (37) 97-101.
- Barth, O. M. & Luz, C. F. P. (2003). Palynological analysis of Brazilian geopropolis sediments. *Grana*, (42) 121-127.
- Barth, O. M. (2006). Palynological analysis of geopropolis samples obtained from six species of *Meliponinae* in the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil. *Apiacta* (41) 71-85.
- Barth, O. M, Barros & M. A, Freitas, F. O. (2009) Análise palinológica em amostras arqueológicas de geoprópolis do Vale do Rio Peruaçu, Januária, Minas Gerais, Brasil. *Arquivos do Museu de História Natural e Jardim Botânico da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais*, (19) 277-290.
- Barth, O. M., Freitas, A. S., Sousa, G. L. & Almeida-Muradian, L. B. (2013). Pollen, physicochemical and trophic analysis of paired honey samples of *Apis* and *Tetragonisca* bees. *Interciência* (38) 280-285.
- Bazlen, K. (2000). *Charakterisierung von Honigen stachelloser Bienen aus Brasilien* (141f). Tese de Doutorado. Eberhard-Karl Universidade de Tübingen, Faculdade de Biologia, Alemanha.
- Dutra, R. P., Nogueira, A. M. C., Marques, R. R. O., Costa, M. C. P. & Ribeiro, M. N. S. (2008) Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da Baixada maranhense, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* (8) 557-562.
- Erdtman, G. (1952). *Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms* (539p). Chronica Botanica, Waltham, Massachusetts.

- Freitas, A. S., Vit, P. & Barth, O. M. (2012). Pollen profile of geopropolis samples collected by native bees (Meliponinae) in South American countries. *Sociobiology* (59) 1465-1482.
- Freitas, A. S., Vit, P. & Barth, O. M. (2013). Pollen analysis of geopropolis and própolis from stingless bees. In Vit, P.; Roubik, D.W. (Ed.). *Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots* (Cap. 9). Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. Recuperado de <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/35292>.
- Louveaux, J., Maurizio, A. & Vorwohl, L. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World* (59) 139-157.
- Manrique, A. J. & Santana, W. C. (2008). Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona sp.* de Brasil y Venezuela. *Zootecnia Tropical* (26) 157-166.
- Nogueira-Neto, P. (1953). *A criação de abelhas indígenas sem ferrão* (280p). São Paulo, Editora Chácara e Quintais.
- Nogueira-Neto, P. (1997). *Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão* (446p). São Paulo, Editora Parma Ltda.
- Ramalho, M., Silva, M. D. & Carvalho, C. A. L. (2007). Dinâmica de uso de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no domínio tropical atlântico. *Neotropical Entomology*, (36) 38-45.
- Roubik, D. W. (1978). Competitive interactions between neotropical pollinators and africanized honey bees. *Science* (201) 1030-1032.
- Roubik, D. W. & Moreno, J. E. (1991). *Pollen and spores of Barro Colorado Island* (268p). Missouri Botanical Garden, St. Louis, USA.
- Schaffer, W. M., Zeh, D. W., Buchmann, S. I., Kleinhans, S., Schaffer, M. V. & Antrín, J. (1983). Competition for nectar between introduced honey bees and native north american bees and ants. *Ecology* (64) 564-577.
- Teixeira, E. W., Message, D., Meira, R. M. S. A. & Salatino, A. (2003). Indicadores da origem botânica da própolis, importância e perspectivas. *Boletim da Indústria Animal* (60) 83-106.
- Vit, P. (2005). *Melissopalynology Venezuela* (p.205). ABIBA-CDCHT, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Recebido em: 29/01/2013

Aceito em: 16/04/2014