

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Débora Munhoz Rodrigues

*Baccharis dracunculifolia*: Formação de pasto apícola, estudo das interações com *Apis mellifera* e insetos galhadores na produção de própolis verde

Ribeirão Preto  
2017

**Débora Munhoz Rodrigues**

*Baccharis dracunculifolia*: Formação de pasto apícola, estudo das interações com *Apis mellifera* e insetos galhadores na produção de própolis verde

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/ USP para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

**Orientador:** Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 01/09/2017. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto  
2017

<p>Rodrigues, D. M.</p>	<p><b><i>Baccharis dracunculifolia</i>: Formação de pasto apícola, estudo das interações com <i>Apis mellifera</i> e insetos gallhadores na produção de própolis verde</b></p>	<p>MESTRADO FCFRPUSP 2017</p>
-----------------------------	--	---------------------------------------

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Rodrigues, Débora Munhoz

*Baccharis dracunculifolia*: Formação de pasto apícola, estudo das interações com *Apis mellifera* e insetos galhadores na produção de própolis verde. Ribeirão Preto, 2017.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Bastos, Jairo Kenupp.

1. *B. dracunculifolia*.
2. Própolis verde.
3. Insetos galhadores.
4. *A. mellifera*

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Débora Munhoz Rodrigues

*Baccharis dracunculifolia*: Formação de pasto apícola, estudo das interações com *Apis mellifera* e insetos galhadores na produção de própolis verde

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

# Dedicatória

## Aos Meus Amados Pais

Ailton Rodrigues e Rosa Munhoz, que me apoiam incondicionalmente na minha escolha profissional, que é fazer pesquisa. Pais exemplos de simplicidade e felicidade, que sempre me incentivam pela busca do conhecimento e da evolução como pessoa. Quero agradecer as palavras e os conselhos sábios de ambos, que me ensinam diariamente a olhar o lado lindo e belo da vida e de ser humano.

## Ao Meu Irmão

Renan Munhoz, grande conselheiro que amplia a minha visão para as possibilidades, sempre sensato, lucido e prático. Obrigada meu irmão por me completar e, apesar da distância, sempre se fazer presente.

## Agradecimentos Especiais

Ao Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

Por me orientar como aluna de mestrado e compartilhar conhecimentos para que eu pudesse aprender tanto profissionalmente, na química de produtos naturais, quanto pessoalmente, na filosofia de vida e experiência de mundo. Agradecer imensamente pela paciência, pelo apoio e confiança nessa trajetória desafiadora.

À Empresa Natucentro

Que além de disponibilizar recursos necessários para o bom desenvolvimento desse trabalho sempre foram gentis, educados e profissionais. Obrigada pela receptividade mineira, pelo carinho e apoio durante as visitas e trabalhos desenvolvidos em campo na cidade de Bambuí-MG.

# Agradecimentos

- ❖ Aos técnicos de Laboratório de Farmacognosia, Mario Ogasawara e Maria Angelica Chellegatti que sempre ajudam os pós-graduandos em nosso dia-a-dia de laboratório com muito carinho e dedicação;
- ❖ Ao Prof. Dr. Rodrigo A. S. Pereira pela ajuda nas metodologias de campo, na entomologia e nas estatísticas. Muito Obrigada pelos ensinamentos e paciência;
- ❖ À Prof. Dra. Niede A. J. Cardoso Furtado pelos conselhos e conversas, os quais foram importantes na continuação desse trabalho;
- ❖ Ao Prof. Dr. Fernando Batista da Costa por disponibilizar o equipamento de espectrometria de massas com analisador Orbitrap e fonte de ionização tipo electrospray;
- ❖ Aos amigos e funcionários da empresa Natucentro (Bambuí-MG), Riede, Ronie, Rubaian, Edson, Edeir que contribuíram e me ajudaram muitíssimo nas atividades de campo. Agradeço pela oportunidade em conhecer pessoas assim, de coração e alma grande. Aprendi muito com todos vocês e agradeço pela experiência incrível vivida e por me ensinarem um pouquinho desse olhar diferenciado com o campo, a natureza e a vida;
- ❖ Às minhas amigas irmãs Ingrid Pontes e Anny Lima pelos conselhos, sorrisos, filosofias e companheirismo nesses anos de trabalho;
- ❖ À amiga Carol Arruda pela constante e diária ajuda no laboratório, pelos ensinamentos em espectroscopia de ressonância magnética nuclear e pela paciência e disponibilidade;

- ❖ À amiga Rosana Casoti pela gentileza e ajuda na espectroscopia de massas, sempre com um alto astral contagiante e um sorriso no rosto;
- ❖ Ao amigo Marcelo Claro de Souza pelos conselhos, paciência, disponibilidade e ensinamentos na área de estatística;
- ❖ Aos amigos de laboratório, todos sempre tão disponíveis e que contribuíram para o meu aprendizado e crescimento. Quero agradecer de coração por toda ajuda e receptividade, obrigada amigos: Ingrid, Anny, Jonas, Jolindo, Marcelo, Marcela, Marília, Victor, Jennyfer, Rosana, Gari, Lucas, Federico, Felipe, Mohamed, Carol, Juliana;
- ❖ Aos funcionários e ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, por toda infraestrutura na realização do curso de Mestrado;
- ❖ Ao programa de Pós-Graduação da FCFRP-USP e aos funcionários pela colaboração.
- ❖ À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo; Processo N° 2015/04148-8, pela bolsa concedida.

**“Suba a montanha não para fixar a sua bandeira, mas para abraçar o desafio, desfrutar do ar e usufruir da paisagem. Escale-a para que possa ver o mundo, não para que o mundo possa te ver” David McCullough Jr.**

## RESUMO

Rodrigues, D. M. ***Baccharis dracunculifolia*: Formação de pasto apícola, estudo das interações com *Apis mellifera* e insetos galhadores na produção de própolis verde.** 2017. 105f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

*Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), conhecida popularmente como “alecrim do campo” ou “vassourinha”, é uma planta nativa brasileira amplamente distribuída nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Esta espécie tem se destacado pela rica interação com insetos, galhadores e especialmente *Apis mellifera*, e na produção de metabólitos secundários com inúmeras atividades biológicas. A interação com as abelhas *A. mellifera* possibilita a produção da própolis verde, produzida a partir de fragmentos vegetativos, material resinoso e balsâmico da *B. dracunculifolia*. Esta espécie também possui uma rica interação com insetos galhadores, os quais formam estruturas atípicas no tecido vegetal, conhecidas como galhas. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi investigar as correlações existentes entre os metabólitos secundários da *B. dracunculifolia* com os insetos galhadores e a visitação de abelhas *A. mellifera* na produção de própolis verde. Os indivíduos de *B. dracunculifolia* foram cultivados na região de cerrado no estado de Minas Gerais, Bambuí-MG. Dentre as 400 espécies plantadas, 48 indivíduos de *B. dracunculifolia*, sendo 24 fêmeas e 24 machos, foram investigados quanto ao grau de infestação por galhas, número de abelhas visitantes e o tempo de coleta de resina pelas abelhas. As folhas da *B. dracunculifolia* e as própolis verdes foram analisadas tanto por cromatografia gasosa (CG-DIC), avaliação dos componentes voláteis, quanto por cromatografia líquida (CLAE-DAD), avaliação dos componentes fixos. Os dados de observações de campo e as quantificações dos componentes majoritários foram analisados frente aos testes estatísticos de Wilcoxon-Mann-Whitney e Spearman para diferenças e correlações estatísticas, respectivamente. Estatisticamente foi possível observar diferenças significativas entre os indivíduos machos e fêmeas, sendo que os machos apresentaram maior infestação por insetos galhadores e as fêmeas foram mais visitadas pelas abelhas, nas quais também permanecem mais tempo coletando resina para a produção da própolis verde. Correlações entre o trans-cariofileno e a substância D (substância fenólica ainda não identificada), com o número de abelhas e o tempo de coleta de resina também foram observadas. Essas duas substâncias apresentaram valores de concentrações maiores nas fêmeas e parecem ter uma pequena contribuição para as diferenças de visitação encontradas entre os indivíduos machos e fêmeas de *B. dracunculifolia*. A galha de maior infestação foi quantificada e coletada, sendo identificada como sendo do inseto *Baccharophelma dracunculifolia*. Importante destacar também que houve sucesso na criação do pasto apícola, uma vez que as abelhas estão coletando resina das plantas cultivadas no campo de pesquisa em Bambuí- MG possibilitando maior produtividade e qualidade da própolis verde produzida nesta região.

Palavras-chave: *B. dracunculifolia*, própolis verde, insetos galhadores, *A. mellifera*

## ABSTRACT

Rodrigues, D. M. ***Baccharis dracunculifolia*: Bee pasture formation, study of interactions with *Apis mellifera* and galling insects in the production of green propolis.** 2017. 105f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

*Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), popularly known as “alecrim do campo” or “vassourinha”, is a Brazilian native plant widely distributed in the states of São Paulo and Minas Gerais. This species stands out for the rich interaction with insects, galling insects and especially *Apis mellifera*, and in the production of secondary metabolites, which display important pharmacological activities. The interaction with bees *A. mellifera* allows the production of green propolis, produced from vegetative fragments, resinous and balsamic material of *B. dracunculifolia*. This species also has a rich interaction with galling insects, which form atypical structures in the plant tissue, known as galls. Therefore, the aim of this work was to investigate the correlations between the secondary metabolites of *B. dracunculifolia* with galling insects and the visitation of *A. mellifera* in the production of green propolis. The individuals of *B. dracunculifolia* were cultivated in the cerrado region of the State of Minas Gerais, Bambuí-MG, and among the 400 planted species, 48 individuals of *B. dracunculifolia*, 24 females and 24 males, were investigated for the degree of galls infestation, number of visiting bees and the time of resin collection by the bees. Samples from plants and green propolis were analyzed by gas chromatography (GC-FID), for volatile components evaluation, and by liquid chromatography (HPLC-PDA), for evaluation of fixed components. Statistically, the data from field observations and quantifications of major components were analyzed by Wilcoxon-Mann-Whitney and Spearman for statistical differences and correlations, respectively. Statistically significant differences were observed between males and females, with males showing higher infestation by galling insects and females more visited by bees, in which they also spent more time collecting resin for the production of green propolis. Correlations between trans-caryophyllene and compound D (phenolic compound not yet identified), with the number of bees and the time of resin collection were also observed. These two compounds had higher concentration values in females and seem to have a small contribution to the differences in visitation found between males and females of *B. dracunculifolia*. The gall with highest infestation was quantified and collected, being identified as the insect *Baccharophelma dracunculifolia*. It is also important to note that there was success in the bee pasture formation, since the bees are collecting resin from the plants cultivated in the research field in Bambuí - MG, allowing greater productivity and quality of the green propolis produced in this region.

Keywords: *B. dracunculifolia*, green propolis, galling insects, *A. mellifera*

# SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>II</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 PRODUTOS NATURAIS E METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....	1
1.2 FAMÍLIA ASTERACEAE E O GÊNERO <i>BACCHARIS</i> .....	2
1.3 ESPÉCIE <i>BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA</i> .....	3
1.3.1 Interação com <i>Apis mellifera</i> e produção de própolis .....	3
1.3.1.1 Própolis verde .....	5
1.3.2 Interação com insetos e formação de galhas .....	6
<b>2. CONCLUSÕES</b> .....	<b>8</b>
<b>3. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>11</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Produtos Naturais e Metabólitos Secundários

A natureza tem sido fonte de medicamentos para os seres humanos ao longo dos séculos, com fármacos desenvolvidos a partir de fontes vegetais com amplo espectro no tratamento de doenças formam a base de sistemas sofisticados da medicina tradicional (NEWMAN; GRAGG, 2013).

Apesar de nas últimas décadas a indústria farmacêutica ter focado em compostos sintéticos na descoberta de novos fármacos, ao mesmo tempo, houve uma tendência de queda no número de novos medicamentos que chegaram ao mercado. Assim, renovou-se o interesse científico na descoberta de novos medicamentos a partir de fontes naturais. Os recentes avanços tecnológicos e as tendências da pesquisa indicam claramente que os produtos naturais estarão entre as mais importantes fontes de novos fármacos também no futuro (ATANASOV, et al., 2015).

Os Metabólitos secundários biologicamente ativos obtidos a partir de vegetais como protótipos para o desenvolvimento de fármacos se destacam pela singularidade das moléculas e na descoberta de diversos mecanismos de ação, como no caso de antitumorais, anti-inflamatórios, anti-helmínticos e outros. A descoberta da extensa gama de atividades biológicas, destacando-se principalmente a atividade antitumoral, tem sido apontada como demonstrativo da potencialidade de produtos de origem vegetal (SIMÕES, et al., 2007). Aproximadamente 60% dos compostos utilizados no tratamento do câncer e 75% daqueles usados para doenças infecciosas são produtos de origem natural ou derivados (MCCHESENEY, et al., 2007; NEWMAN; GRAGG, 2013).

No Brasil a magnitude da biodiversidade não é conhecida com precisão devido a sua notável complexidade, uma vez que estima-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e micro-organismos. O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (SIMÕES, et al., 2007). Apesar dessa potencialidade de recursos naturais

brasileiros, estudos com plantas medicinais ainda não receberam no Brasil a atenção que o tema merece (PINTO, et al., 2002).

## 1.2 Família Asteraceae e o Gênero *Baccharis*

A família Asteraceae é o grupo sistemático mais numeroso dentro das angiospermas. Possui aproximadamente 23 mil espécies, agrupadas em 1.535 gêneros e 17 tribos, sendo que novos gêneros e espécies vêm sendo descritos a cada ano. São plantas de aspecto extremamente variado, incluindo principalmente pequenas ervas ou arbustos e raramente árvores (SFORCIN, et al., 2012; VERDI, et al., 2005).

Quimicamente, esta família destaca-se pela enorme diversidade de metabólitos secundários, sendo caracterizada principalmente pela presença de terpenoides e flavonoides. (SFORCIN, et al., 2012). Devido às suas propriedades bioativas, as plantas desta família são comumente utilizadas no tratamento de diversas doenças. Algumas espécies da família Asteraceae são usadas como remédios para muitos problemas de saúde, tais como, *Calendula officinalis*: antitumoral e anti-HIV; *Mikania glomerata*: tratamento de doenças respiratórias; *Artemisia annua*: antimalárico; *Tanacetum vulgare*: anti-inflamatório (TEOH, et al., 2006; WEGIERA, et al., 2012; CORRÊA, et al., 2008).

O gênero *Baccharis* ocorre em grande concentração no Brasil, sendo encontradas cerca de 200 espécies no Brasil e, aproximadamente, 120 espécies no sudoeste Brasileiro, indicando que essa área é o provável centro de origem do táxon. As plantas deste gênero são arbustos dióicos perenes, medindo de 0,5- 4,0m de altura (GOMES, et al., 2002; BUDEL, et al., 2005).

Estudos das atividades biológicas deste gênero destacam-se nas atividades alelopáticas, antimicrobianas, citotóxicas e anti-inflamatórias. A maioria das atividades está relacionada aos terpenos e tricotecenos. Todavia, os flavonoides estão despertando muito interesse em diversas aplicações para a medicina, como a antioxidante, possuindo diferentes graus de atividade em diferentes modelos experimentais (VERDI, et al., 2005).

Devido à enorme importância medicinal, comercial e ecológica, várias espécies de *Baccharis* têm atraído a atenção de muitos pesquisadores, como é o caso da *Baccharis dracunculifolia* (SFORCIN, et al., 2012).

### **1.3 Espécie *Baccharis dracunculifolia***

*Baccharis dracunculifolia* DC, conhecida popularmente como “alecrim do campo” ou “vassourinha” (BUDEL, et al., 2004), é um arbusto perene de 2-3m de altura que apresenta características próprias de plantas invasoras e uma alta capacidade de crescimento natural, ocorrendo frequentemente em áreas perturbadas e pastagens (GOMES, et al., 2002).

*B. dracunculifolia*, planta nativa brasileira amplamente distribuída em São Paulo e Minas Gerais, é a fonte botânica mais importante para produção de própolis verde (PARK et al., 2004), a qual destaca-se na produção de metabólitos secundários com inúmeras atividades biológicas. Aos seus diferentes extratos têm se atribuído as atividades: antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, antiulcerogênica, leishmanicida e antimalárica. (HOCAYEN, et al., 2012; MASSIGNANI, et al. 2009; DA SILVA FILHO, et al., 2009). Seu óleo essencial também desperta grande interesse, principalmente, da indústria de perfumaria (BUDEL, et al., 2005).

Além disso, *B. dracunculifolia* tem sido objeto de estudos entomológicos, pela sua riqueza de insetos herbívoros e galhadores, destacando-se principalmente por sua relação peculiar com abelhas *Apis mellifera*. Seus compostos, depois de processados pelas abelhas na produção da própolis, têm a ação antimicrobiana e anti-inflamatória, dentre outras (SANTOS, et al., 2011).

#### **1.3.1. Interação com *Apis mellifera* e produção de própolis**

*Apis mellifera* brasileira, a qual pertence às abelhas africanizadas, são populações poli-híbridas originadas a partir do cruzamento das abelhas africanas, introduzida no Brasil em 1956, com as abelhas europeias, introduzidas no século XIX (OLIVEIRA, et al., 2005). Esta população possui características muito semelhantes às abelhas africanas nativas, como: alta capacidade de defesa, de adaptação a ambientes inóspitos e a capacidade de reprodução com ciclo de vida

mais curto que as demais subespécies. Tais características permitem rápida ampliação da biomassa e significativo aumento populacional. Além disso, o cruzamento afetou também positivamente a produção de mel no Brasil, sendo de 3 a 5 mil toneladas/ano antes da introdução das abelhas africanas, passando para 40 mil toneladas/ano depois do cruzamento (OLIVEIRA, et al., 2005).

A interação existente entre a *B. dracunculifolia* e a *A. mellifera* possibilita a produção da própolis verde, produto tipicamente brasileiro e de alto valor comercial (BASTOS, et al., 2011).

As abelhas *A. mellifera* produzem própolis a partir de fragmentos vegetativos da *B. dracunculifolia*, tais como brotos, primórdios foliares e folhas jovens (Figura 1). Esse material vegetal é coletado e transportado até as colmeias, onde as abelhas adicionam cera e secreções glandulares ao material resinoso e balsâmico coletado produzindo, assim, a própolis (SFORCIN, et al., 2012). Esta tem variadas funções na colmeia, desde o preenchimento de frestas, para manutenção da temperatura, até a mumificação de insetos e outros invasores, para impedir a decomposição desses e proteger a colmeia de micro-organismos (FERNADES JÚNIOR, et al., 2006).

A composição química da própolis é bastante complexa e variada, estando intimamente relacionada com a ecologia da flora de cada região visitada pelas abelhas e com o período de coleta da resina. Além disso, a variabilidade genética das abelhas rainhas também influencia na composição química deste (LUSTOSA, et al., 2008). Pelo menos 200 compostos foram identificados em diferentes amostras de própolis, com mais de 100 em cada uma, incluindo: ácidos graxos e fenólicos, ésteres, flavonoides, terpenos, aldeídos, álcoois aromáticos, esteroides, naftaleno e derivados de estilbeno (MARCUCCI, et al., 2001).

Inúmeras atividades farmacológicas da própolis têm sido atribuídas aos compostos fenólicos, entre eles flavonoides e ácidos fenólicos, cujos teores têm sido propostos como parâmetros para o controle da qualidade. Devido às inúmeras propriedades benéficas da própolis, o seu uso comercial em produtos farmacêuticos, cosméticos e de higiene pessoal na forma de extratos líquidos é amplo (BURIOL, et al., 2009).

A própolis brasileira produzida no cerrado, rica em derivados prenilados do ácido-*p*-cumárico é conhecida internacionalmente como própolis verde, a qual tem

como principal fonte vegetal a espécie de *Baccharis dracunculifolia* (SOUSA, et al., 2007). Devido ao fato de ser altamente eficaz no combate a uma série de micro-organismos é altamente valorizada no mercado internacional, sendo que, somente no Japão, movimenta um mercado da ordem de 700 milhões de dólares ao ano. A pesquisa sobre a composição química da própolis verde é relativamente recente, tendo, porém, avançado nos últimos anos, tanto no Brasil quanto no exterior (NASCIMENTO, et al., 2008).

A própolis verde tem atraído o mercado asiático e europeu por ser o único a apresentar na sua composição o artepelin C, o qual tem demonstrado importantes atividades farmacológicas, tais como: anti-inflamatórias, antioxidantes e antitumorais. O artepelin C é o componente majoritário presente nas amostras de própolis brasileira e foi identificado como sendo o principal composto bioativo da própolis verde, sendo considerado um biomarcador importante para o controle químico e biológico da qualidade da resina de própolis no Brasil (PAULINO, 2005).

#### **1.3.1.1. Própolis verde**

Diferentes tipos de própolis são encontradas em território brasileiro, as quais podem ser classificadas em doze grupos distintos, conforme critérios de similaridade físico-químicos das amostras (PARK, et al., 2004). A coloração da própolis depende de sua procedência, variando de marrom escuro à uma tonalidade esverdeada e que pode chegar até o marrom avermelhado (LUSTOSA, et al., 2008).

Essa diversidade se deve ao processo de produção da própolis, no qual os compostos podem ser originados de três fontes distintas: exsudatos de plantas coletados por abelhas, substâncias secretadas no metabolismo das abelhas e substâncias que são introduzidos durante a elaboração da própolis (PAULINO, 2005).

A própolis verde é denominada “verde” devido à sua origem botânica da espécie *Baccharis dracunculifolia*. As abelhas coletam tecidos jovens contendo clorofila, como brotos vegetais e folhas jovens, e utilizam na colmeia para a elaboração da própolis de tonalidade esverdeada – a própolis verde (SFORCIN, et al., 2012).

### 1.3.2. Interação com insetos e formação de galhas

Alguns insetos, denominados insetos galhadores, assim como, vírus, bactérias ou fungos podem associar-se as plantas induzindo a formação de estruturas atípicas no tecido vegetal (Figura 2). Estas estruturas atípicas, chamadas de galhas, são células, tecidos ou órgãos da planta superdesenvolvidos que têm como finalidade a formação de abrigo aos indutores (FERNANDES, et al., 1988). Esta estratégia de desenvolvimento, caracterizada pela hipertrofia e/ou hiperplasia do tecido vegetal, além de garantir suprimento alimentar também assegura proteção contra diferentes predadores (BRIGHENTI, et al., 2011; SANTANA, 2013).

Espécies do gênero dióico *Baccharis* L. apresentam uma rica fauna de insetos galhadores associados, sendo relatados 17 tipos de galhas associadas a *B. dracunculifolia* (JULIÃO, et al., 2005).

A relação ecológica entre plantas e insetos galhadores não implica em benefícios para a planta como ocorre aos insetos galhadores. No entanto, essa interação inseto-plantas acarreta mudanças estruturais e metabólicas importantes nas plantas hospedeiras. Estas incluem alterações na composição de alguns produtos químicos dos metabólitos primários e secundários, tais como flavonoides, taninos, antocianinas, compostos fenólicos, aminoácidos livres e açúcares. Dentre os fenóis totais, há uma gama de moléculas sinalizadoras cuja variação quantitativa pode indicar diferentes padrões de respostas dos vegetais a fatores bióticos como à ação dos insetos galhadores e fatores abióticos, os quais podem influenciar indiretamente o sucesso no estabelecimento e desenvolvimento destes insetos (RAMALHO, et al., 2010).

Alguns compostos produzidos pelas plantas são considerados estratégias de defesa contra ataque de herbívoros. No entanto, alteração desses metabólitos secundários pelos insetos galhadores podem trazer-lhes benefícios próprios. Defesa não é o único papel dessas substâncias, as quais podem também estar associadas com a atração de polinizadores, proteção contra a luz ultravioleta, suporte estrutural e armazenamento temporário de nutrientes e localização de plantas hospedeiras (BASTOS, et al., 2011).

Tem-se observado recentemente, em condições de campo, que há plantas de *B. dracunculifolia* que são mais atrativas para as abelhas africanizadas. Esse fato

foi notado através das injúrias observadas em algumas plantas e relatado por apicultores em eventos recentes da área. A maior atratividade pode ocorrer pela liberação de compostos voláteis da *Baccharis* como mecanismo de defesa contra insetos herbívoros (BRIGHENTI, et al., 2011).

Portanto, estudos químicos das alterações metabólicas da planta induzidas pelos insetos galhadores e relacionadas com a atração de abelhas e a produção de própolis são de grande importância, uma vez que podem contribuir tanto para apicultura, na formação de pastos apícolas, quanto para a indústria, no aumento da produção de mel e própolis.



**Figura 1:** Abelha *Apis Mellifera* coletando resina da *B. dracunculifolia* para produção de própolis verde.



**Figura 2:** Galha formada por insetos galhadores na *B. dracunculifolia*.

## 2. CONCLUSÕES

A partir dos resultados de campo das sete coletas, percebe-se que há diferenças estatísticas significativas entre os indivíduos femininos e masculinos da espécie *Baccharis dracunculifolia*, sendo os indivíduos femininos mais visitados pelas abelhas, as quais além de visitarem mais as fêmeas também permanecem maior tempo coletando resina para produção da própolis verde.

Investigações químicas e estatísticas foram realizadas com a finalidade de encontrar relação entre o metabolismo secundário e a maior visitação de abelhas e tempo de coleta de resina nas fêmeas, tendo sido observado estatisticamente que duas substâncias, uma volátil, o trans-cariofileno, e outra fixa, a substância “D” fenólica, estão correlacionadas positivamente com o número de abelhas e tempo de coleta de resina, as quais aparecem em maiores concentrações nas fêmeas. Foi possível observar também que estas duas substâncias aparecem correlacionadas negativamente com o número de galhas, reforçando os indícios de que estas substâncias contribuam para as diferenças entre machos e fêmeas observadas em campo. Apesar das correlações obtidas, os coeficientes de determinação calculados indicaram baixa correlação entre os fatores, indicando que estas substâncias exercem um efeito em torno de 10% no número de abelhas, no tempo de coleta de resina e no número de galhas. Acredita-se que outras substâncias não investigadas também estejam participando desse processo, e que a contribuição de cada uma delas seja a responsável pelas diferenças observadas em campo.

Analisando ambos os sexos, foi possível evidenciar a correlação de outras substâncias com o tempo de coleta de resina, número de abelhas e número de galhas. Apesar de evidenciarem correlações, os coeficientes de determinação obtidos também foram muito baixos. As substâncias com  $R^2$  acima de 5% foram o nerolidol e a substância “D” correlacionados com o número de abelhas e o tempo de coleta de resina. Para o número de galhas foram às substâncias biciclogermacreno,  $\delta$ -cadineno, ácido cumárico e a substância D.

Foi possível observar também, durante o período estudado, épocas de maior visitação e coleta de resina pelas abelhas e épocas de maior infestação por insetos galhadores.

Quanto à visitação de abelhas e tempo de coleta de resina nos indivíduos de *B. dracunculifolia* houve grande variação durante o ano, sendo menos frequente no final de julho até começo de setembro, quando a produção de própolis verde é bem baixa, período esse que muitas vezes cessa a produção. Quando se inicia o verão no final do ano, a produção começa a aumentar, sendo o pico de maior produção entre os meses de março a maio. Analisando estatisticamente a temperatura, umidade e a velocidade do vento, o fator abiótico que parece estar mais correlacionado com o número de abelhas e tempo de coleta de resina é a umidade. No entanto, apesar de estar correlacionada positivamente, a porcentagem de influencia desse fator foi calculado em menos que 5%.

Já quanto ao número de galhas é importante destacar que a infestação por galhas foi maior em determinadas épocas do ano, com pico de infestação em junho e julho. Estatisticamente a influencia da temperatura foi confirmada, pois se encontrou correlação negativa entre a temperatura e o número de galhas com coeficiente de determinação alto, no valor de 29% de explicação da variância. Além disso, as galhas de *B. dracunculifolia* do campo de cultivo da cidade de Bambuí-MG foram coletadas e analisadas, permitindo a confirmação da infestação do inseto galhador *Baccharopelma dracunculifolia*.

As análises entre a umidade, temperatura com os metabólitos secundários, demonstraram que as substâncias que mais influenciam pela variação da temperatura são as substâncias A e B, dois flavonoides, que apresentaram mais de 20% de correlação com a temperatura. As demais substâncias apresentaram menos de 15% de explicação da variância.

Para o mercado brasileiro, produtor e exportador da própolis, as avaliações quantitativas das substâncias fixas e voláteis presentes na própolis verde são muito importantes. A partir desse trabalho observou-se, nas amostras de própolis verde analisadas, que não há diferenças estatísticas quanto aos componentes voláteis estudados e, para os componentes fixos, somente as concentrações de baccarina tiveram uma variação de 30% entre as seis coletas analisadas. Vale destacar que o

artepelin C, substância de grande interesse internacional devido às suas atividades biológicas, também não apresentou variações quantitativas nas própolis verde analisadas. Portanto, podemos dizer que as própolis analisadas durante o período de um ano apresentam uma padronização para a maioria dos componentes fixos e voláteis, o que demonstra qualidade do produto bruto disponível.

Importante destacar também que houve sucesso na criação do pasto apícola, uma vez que as abelhas estão coletando resina das plantas cultivadas no campo de pesquisa em Bambuí- MG possibilitando o aumento da produção de própolis em áreas mais concentradas.

### 3. REFERÊNCIAS

- BASTOS, E. M. A. F.; SANTANA, R. A.; CALAÇA-COSTA, A. G. F.; THIAGO, P. S. Interaction between *Apis mellifera* L. and *Baccharis dracunculifolia* DC, that favours green propolis production in Minas Gerais. **Brazilian Journal of Biology**, v.71, n.3, p. 727-734, 2011.
- BRIDHENTI, C. R. G.; RESENDE, M.; BRIDHENTI, D. M. Estimação sequencial bayesiana aplicada à proporção de infestação de psilídeos em alecrim do campo. **Revista Brasileira de Biometria**, v.29, n.2, p. 342-354, 2011.
- BUDEL, J. M .; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. M.; FARAGO, P. V.; MATZENBACHER, N. I. Morfoanatomia Foliar e Caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v.23, n.4, p. 477-483, 2004.
- BUDEL, J. M .; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. M.; FARAGO, P. V.; MATZENBACHER, N. I. O progresso da pesquisa sobre o gênero *Baccharis*, Asteraceae: I - Estudos botânicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.3, p. 268-271, 2005.
- DA SILVA FILHO, A. A.; RESENDE, D. O.; FUKUI, M. J.; SANTOS, F. F.; PAULETTI, P. M.; CUNHA, W.R.; SILVA, M. L. A.; GREGÃO RIO, L. E.; BASTOS, J. K.; NANAYAKKARA, N. P. D. In vitro antileishmanial, antiplasmodial and cytotoxic activities of phenolics and triterpenoids from *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae). **Fitoterapia**, v. 80, p. 478-482, 2009.
- FERNANDES JÚNIOR, A.; LOPES, M. M. R.; COLOMBARI, V.; MONTEIRO, A. C. M.; VIEIRA, E. P. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p. 294-297, 2006.
- FERNANDES, G. W. A.; TAMEIRÃO NETO, E.; MARTINS, R. P. Ocorrência e caracterização de galhas entomógenas na vegetação do campus pampulha da universidade federal de minas gerais. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.5, n.1, p. 11-29, 1988.
- FERRERES, F.; SILVA, M. B.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R M.; FERREIRA, M. A. Approach to the study of C-glycosyl flavones by ion trap HPLCPAD-ESI/MS/MS: application to seeds of quince (*Cydonia oblonga*). **Phytochemical Analysis**, v. 14, n. 6, p. 352-359, 2003.

- GOMES, V.; FERNANDES, G. W. Germinação de aquênios de *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae). **Acta Botanica Basilica**, v.16, n.4, p. 421-427, 2002.
- HATTORI, H.; OKUDA, K.; MURASE, T.; SHIGETSURA, Y.; NARISE, K.; SEMENZA, G. L.; NAGASAWA, H. Isolation, identification, and biological evaluation of HIF-1-modulating compounds from Brazilian green propolis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, n.19, p. 5392-5401, 2011.
- HOCAYEN, P. A. S.; CAMPOS, L. A.; POCHAPSKI, M. T.; MALFATTI, C. R. M. Avaliação da toxicidade do extrato bruto metanólico de *Baccharis dracunculifolia* por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **Revista de Botânica**, n.41, p. 23-31, 2012.
- LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; ROLIM NETO, P. J. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p. 447-454, 2008.
- MASSIGNANI, J. J.; LEMOS, M. ; MAISTRO, E. L.; SCHAPHAUSER, H. P.; JORGE, R. F.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; DE ANDRADE, S. F. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* on different experimental models in rats. **Phytotherapy Research**, v.23, p. 1355-1360, 2009.
- MCCHESENEY, J. D.; VENKATARAMAN, S. K.; HENRI, J. T. Plant natural products: Back to the future or into extinction?. **Phytochemistry**, v.68, n.14, p.2015-2022, 2007.
- MUHLEN, C. V.; Índices de retenção em cromatografia gasosa bidimensional abrangente. **Scientia Chromatographica**, v.1, n.3, 2009.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **BiochimBiophys Acta**, v.1830, n.6, p. 3670-3695, 2013.
- PARK, Y. K.; PAREDES-GUZMAN, J. F.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; FUJIWARA, F. Y. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 52, p.1100-1103, 2004.
- PAULINO, N. **Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato padronizado de própolis p1 e de seu principal constituinte ativo, artepillin C**. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 137 p., 2005.

- PINTO, A. C.; BOLZANI, V. A.; SILVA, D. H. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, p. 45-61, 2002.
- RAMALHO, V. F.; SILVA, A. G. Modificações bioquímicas e estruturais induzidas nos tecidos vegetais por insetos galhadores. **Natureza on Line**, v.8, n.3, p. 117-122, 2010.
- SANTANA, R. S. M. **Caracterização da comunidade bacteriana endofítica de *Baccharis dracunculifolia*, com e sem galha causada por *Baccharopelma dracunculifoliae***. Dissertação (Mestrado) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 77 p., 2013.
- SANTOS, R. F.; LIMA, L.; ALTIVO, F. S.; LALLA, J. G.; MING, L. C. Produção de fitomassa, teor e produtividade do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. em função da adubação orgânica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, p. 574-581, 2011.
- SFORCIN, J. M.; SOUSA, J. P. B.; DA SILVA FILHO, A. A.; BASTOS, J. K.; BÚFALO, M. C.; TONUCCI, L. R. S. ***Baccharis dracunculifolia*: Uma das principais fontes vegetais da própolis brasileira**. São Paulo: Editora UNESP, p. 38, 2012.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 6° Ed. Porto Alegre: Editora da UFSC, p. 14-379, 2007.
- SOUSA, J. P. B.; FURTADO, N. A. J. C.; JORGE, R.; SOARES, A. E. E.; BASTOS, J. K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p. 85-93, 2007.
- VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.27, n.1, p. 1-7, 2006.