



INSTITUTO DE BOTÂNICA – IBt
Programa de Pós Graduação em
Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente
Curso de Capacitação de monitores e educadores

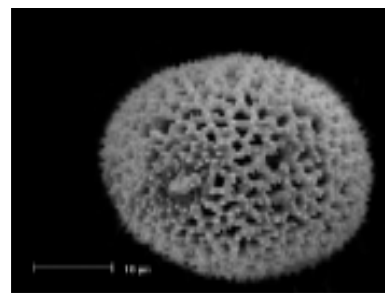
PALINOLOGIA

Eduardo C. Gasparino & Maria Amélia V. Cruz-Barros

São Paulo, outubro de 2006

Palinologia

Eduardo C. Gasparino & Maria Amélia V. Cruz-Barros



Pólen de *Cordia* (Boraginaceae)

Introdução

As fanerógamas, também chamadas de espermatófitas (Spermatophyta), é o grupo de plantas vasculares que produzem sementes. São plantas com o corpo diferenciado em raiz, caule e folhas, com um sistema vascular composto por xilema e floema e com uma alternância de gerações especial: o indivíduo originado a partir do embrião (esporófito diplóide) tem um desenvolvimento completo e produz dois tipos de esporos: o micrósporo (masculino), e o megásporo (feminino), os quais originaram os gametófitos: microgametófito (grãos de pólen) e megagametófito (saco embrionário).

As espermatófitas eram tradicionalmente divididas em: gimnospermas (plantas com sementes nuas, ou sem flores verdadeiras como, por exemplo, os pinheiros) e angiospermas (as plantas que produzem flores, exemplos roseira, palmeira (Fig. 1), girasol (Fig. 2), cacto (Fig. 3), etc.). As classificações científicas atuais organizam as espermatófitas em cinco divisões separadas: Gnetophyta (gêneros *Gnetum*, *Welwitschia* e *Ephedra*), Cycadophyta (cicadáceas), Ginkgophyta (o ginkgo), Pinophyta (coníferas como o pinheiro) e Magnoliophyta (angiospermas).



Fig. 1



Fig. 2



Cactaceae

Fig. 3

Flor das Angiospermas e Polinização



Apocynaceae

Fig. 4

As flores nas angiospermas (Fig. 4) apresentam, na maioria das vezes, quatro verticilos: as sépalas (mais externo, que coletivamente formam o cálice), as pétalas (mais interno, que coletivamente formam a corola), os estames (formando o androceu – aparelho reprodutor masculino) e os carpelos (formando o gineceu – aparelho reprodutor feminino). As sépalas e pétalas são estéreis, sendo as sépalas geralmente verdes e protetoras, cobrindo a flor em botão, enquanto as pétalas são coloridas e funcionam como um atrativo para polinizadores. Os estames são

divididos em filete e antera, a qual contém quatro sacos polínicos (dois pares, onde são formados os grãos de pólen). Os carpelos são usualmente diferenciados em uma parte inferior alargada, o ovário (onde estão os óvulos), e uma parte superior delgada, o estilete, que termina em um estigma receptivo. Em alguns casos, um ou mais verticilos podem estar faltando em flores de alguns tipos de plantas.

O processo pelo qual os grãos de pólen são transferidos das anteras para o estigma das flores é chamado polinização. Os gametas masculinos das angiospermas, ou células espermáticas são levados pelo grão de pólen que é o microgametófito imaturo. No momento da dispersão esse gametófito pode conter duas ou três células. Inicialmente, existe a célula do tubo e a célula geradora, sendo que esta última se divide antes ou depois da dispersão dando origem a duas células espermáticas. O gametófito feminino das angiospermas é denominado saco embrionário. Em muitos

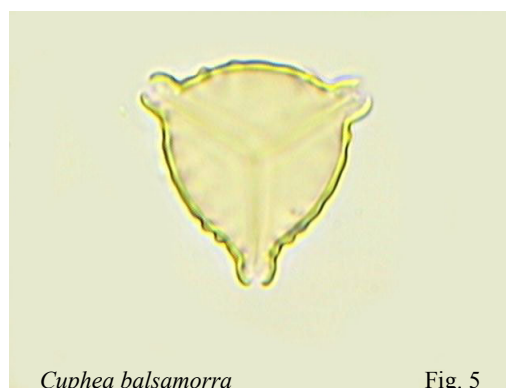
casos, o saco embrionário tem oito núcleos quando maduros, sendo um deles a oosfera (o número de células pode variar em diferentes grupos de angiospermas).

Ambas as células espermáticas do grão de pólen atuam na fecundação das angiospermas (dupla fecundação). Uma delas se une com a oosfera produzindo o zigoto diplóide, e a outra se une com os dois núcleos polares formando o núcleo primário do endosperma, triplóide. Esse núcleo se divide formando um tecido nutritivo característico (endosperma), que pode ser absorvido pelo embrião em desenvolvimento ou pode persistir na semente madura.

Os ovários desenvolvem-se em frutos, que envolvem as sementes (característica não observada nas gimnospermas). Juntamente com as flores, das quais derivam, os frutos são uma característica distintiva das angiospermas.

Os grãos de pólen

Os grãos de pólen (microgametófitos- Fig. 5) são estruturas microscópicas das fanerógamas que transportam a célula reprodutora masculina, portanto estão diretamente relacionados com a reprodução e a perpetuação da espécie. Eles são formados por dois processos independentes: a Microsporogênese (formação dos micrósporos dentro do microsporângio ou saco polínico da antera), e a Microgametogênese (desenvolvimento do microgametófito, o grão de pólen maduro, até o estágio de três células).



Cuphea balsamorhiza

Fig. 5

Estas estruturas foram estudadas pela primeira vez por Malpighi, em 1670. Este cientista italiano fez observações no pólen principalmente em relação a sua cor e forma. Em estudos posteriores a Malpighi, mas ainda na mesma época, também foram observadas a escultura dos grãos de pólen (diferenciando-os entre lisos e espinhosos) e também suas aberturas (número de aberturas).

Os estudos sobre os grãos de pólen começaram a evoluir com a melhoria nos aparelhos ópticos a partir do século XIX e XX, tendo em vista que até esta época os microscópios utilizados eram rudimentares. Assim, este estudo passou a ter importância na identificação de algumas famílias e gêneros de plantas, na descoberta das alergias causadas pelo pólen nas pessoas e no reconhecimento do grão de pólen como um ótimo guia fóssil (a exina, camada externa do grão de pólen, formada de esporopolenina uma substância com grande estabilidade química, fica fossilizada mantendo-se durante muito tempo). Atualmente o estudo do grão de pólen passou de um simples apêndice da Taxonomia Vegetal para constituir uma ciência à parte a PALINOLOGIA.

O termo Palinologia (do grego *palynien*) foi introduzido por dois cientistas Hyde & Willians em 1945: trata-se do estudo das características morfológicas externas de grãos de pólen e esporos (fosséis e atuais) e também da sua dispersão e aplicações.

Depois desta data houve um grande desenvolvimento da palinologia que hoje engloba vários ramos, como por exemplo:

- a) Geopalinologia: estudo dos grãos de pólen e esporos contidos nos sedimentos (tanto atuais quanto fosséis).
- b) Aeropalinologia: estudo dos grãos de pólen e esporos dispersos na atmosfera, relacionados ou não com alergias em seres humanos.
- c) Melissopalinologia: estudo de grãos de pólen encontrados em amostras de mel.

- d) Copropalinologia: estudo dos grãos de pólen e esporos encontrados nos excrementos dos animais.

E por fim, o ramo da palinologia mais associado à Taxonomia Vegetal:

- e) Palinotaxonomia: estudo da taxonomia vegetal pelas características polínicas. São evidências palinológicas usadas para posicionar táxons de afinidades incertas, sugerir rearranjos, afastamentos e separações, bem como confirmar outras linhas de hipóteses da taxonomia. Aqui a palinologia é uma ferramenta usada para auxiliar a taxonomia comparativa e as interpretações evolucionárias dos táxons.

Dentro da palinotaxonomia cada grupo estudado pode ser diferenciado com uma denominação própria. Táxons estenopolínicos são aqueles em que morfologia polínica é invariável dentro do grupo, isto é, quando algumas espécies, um ou vários gêneros, ou famílias possuem em comum um mesmo tipo polínico característico e constante, enquanto que os táxons euripolínicos, possuem uma morfologia polínica variável (tamanho, abertura, escultura, etc.), com vários tipos dentro de um mesmo grupo.

São exemplos de famílias estenopalinológicas: *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Poaceae*, *Apiaceae*. São exemplos de famílias euripalinológicas: *Acanthaceae*, *Apocynaceae*, *Bignoniaceae*, *Asteraceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Malpighiaceae*, *Rubiaceae*, *Sapindaceae*.

A variabilidade morfológica encontrada nos grãos de pólen é a característica que permite o uso da Palinologia em diferentes ramos da ciência. O fato da morfologia polínica não estar sujeita às alterações ambientais sendo desta forma bastante estável, torna o estudo dos grãos de pólen altamente eficaz à Taxonomia Vegetal colaborando para o entendimento das relações entre os diferentes grupos de plantas, na tentativa de traçar as linhas evolutivas entre os táxons.

Morfologia Polínica

O estudo dos grãos de pólen baseia-se principalmente na observação das características morfológicas deste e a comparação destas com outros grãos de pólen. Alguns caracteres morfológicos do grão de pólen possuem grande importância na sua identificação, os principais são: as aberturas, a estrutura e escultura da parede, e a unidade polínica.

As aberturas dos grãos de pólen podem variar quanto a sua forma, podendo ser circular (denominada poro), alongada com medida de comprimento maior que a largura (colpo) e a associação destes dois tipos, que chamamos cólporo; e também os grãos de pólen podem apresentar um número variável de aberturas, sendo denominados de inaperturados, ou com 1, 2 e até várias aberturas.

A parede do grão de pólen é constituída basicamente por duas camadas, a intina (interna e de celulose) e a exina (mais externa constituída por esporopolenina). Ao microscópio óptico a exina pode ser subdividida em outra duas camadas, a nexina uma camada interna e homogênea e a sexina, externa com elementos de diferentes formas geométricas que formam os detalhes da estrutura da parede e determinam o padrão de escultura. Sendo assim, a escultura dos grãos de pólen podem ser bastante variada, como por exemplo:

- A) Psilada: escultura lisa desprovida de ornamentação (Fig. 6);
- B) Foveolada: depressões no teto maiores que 1 μm guardando entre si distância maior que 1 μm .
- C) Escabrada: ornamentação com grânulos de sexina menores que 1 μm de altura;
- D) Verrugada: provida de verrugas (elementos da exina, não pontiagudos, não constrictos na base e cujo diâmetro basal é geralmente maior que o diâmetro transversal);
- E) Baculada: provida de báculos que são pequenos bastonetes da sexina dispostos radialmente;
- F) Pilada: apresentando pequenos processos de sexina constituídos de cabeça mais ou menos espessada e colo semelhante a um bastão (pilos);

- G) Espinhosa: com espinhos (elementos pontiagudos da ornamentação da exina, com altura igual ou superior a 1 μm , Fig. 7);
- H) Estriada: com depressões estreitas, mais ou menos paralelas, separadas por arestas (Fig. 8);
- I) Rugulada: provida de elementos de ornamentação salientes sendo pelo menos duas vezes ou mais alto que largo, de forma e distribuição irregular;
- J) Reticulada: apresentando retículos (ornamentação com muros que circundam lumens maiores que 1 μm , onde a largura dos muros é sempre mais estreita que o diâmetro dos lumens, Figs. 9-10);
- K) Etc.; (As definições de ornamentação seguem Barth & Melhem 1988).

Por fim, os grãos de pólen quando maduro podem estar isolados (sozinhos) em mônades, ou agrupados em díades (dois grãos de pólen juntos), tétrades (Fig. 11), políades, mássulas ou polínias. Essas unidades polínicas podem identificar famílias, gêneros e até espécies de plantas. Walker & Doyle (1975) acreditam que as tétrades representam um caráter avançado sobre os grãos de pólen isolados; as políades representam um grau mais avançado que tétrades, mas não podemos esquecer que políades podem originar tétrades e mônades.

O tamanho e a forma nos grãos de pólen são caracteres morfológicos com pouco valor diagnóstico. A forma de um grão de pólen é definida pela relação entre o seu diâmetro polar e o seu diâmetro equatorial. São denominados grãos de pólen não-fixiformes aqueles que não possuem forma definida (como ocorre em angiospermas marinhas) e fixiforme aqueles que possuem forma polínica definida. Quando falamos em tamanho dos grãos de pólen, trata-se de um caráter instável, já que pode ser afetado segundo o método de preparação (Melhem & Matos 1972). Segundo Melhem (1978), nas angiospermas podemos encontrar desde grãos de pólen com poucos micrômetros (2 μm , em *Myosotis*, Boraginaceae), até cerca de 300 μm (Annonaceae).



Fig. 6: *Psidium littorale*



Fig. 7: *Sicyos polyacanthus*

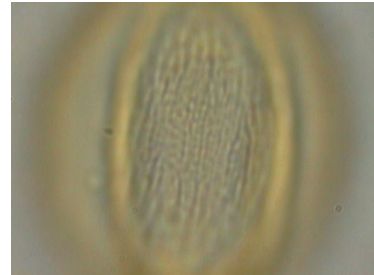


Fig. 8: *Anisoperma passiflora*

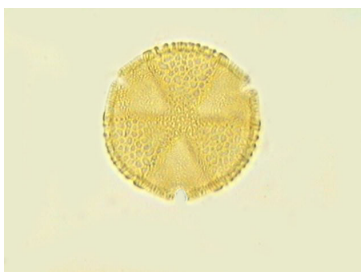


Fig. 9: *Caesalpinia peltophoroides*



Fig. 10: Liliaceae

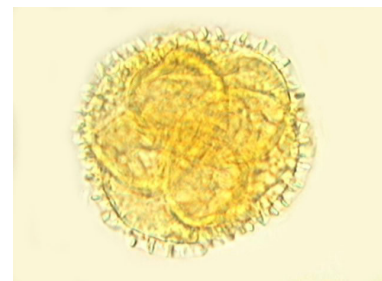


Fig. 11: *Drimys brasiliensis*

Estudos polínicos

A técnica de preparação polínica mais utilizada nos estudos dos grãos de pólen é a acetólise de Erdtman 1952 (modificada em Melhem *et al.* 2003), que consiste na hidrólise ácida aplicada aos grãos de pólen através de uma mistura de anidrido acético e ácido sulfúrico com proporção de 9:1, buscando a eliminação do conteúdo celular, facilitando a visualização e o reconhecimento dos caracteres morfológicos.

Em alguns casos, quando os grãos de pólen são muito frágeis e não resistem a acetólise, utiliza-se a técnica de acetólise láctica de Raynal & Raynal (1971), a qual consiste na diminuição de anidrido acético e o acréscimo de ácido láctico tornando a mistura acetolítica mais fraca, esta técnica foi originalmente desenvolvida para o tratamento de materiais de Musaceae, Cannaceae, Lauraceae, Maranthaceae e Zingiberaceae, que não resistem a acetólise tradicional.

Outro método utilizado é o de Wodehouse (1935), apesar de não eliminar o conteúdo polínico e, portanto, não permitir a visualização detalhada da ornamentação do grão de pólen, este método permite a confecção de lâminas com durabilidade maior do que as obtidas na acetólise láctica. Este método é de fácil execução e de grande utilidade principalmente aos taxonomistas que necessitam de uma visão rápida do grão de pólen.

Independente da técnica utilizada para a preparação dos grãos de pólen, na maioria das vezes são montadas lâminas com gelatina glicerizada para a observação ao microscópio óptico, e tomadas as medidas necessárias. Normalmente são medidos os diâmetros dos grãos de pólen, suas aberturas e sua exina; assim, pode-se realizar uma análise estatística descritiva com base nas medidas para comparar os grãos de pólen das espécies estudadas.



Laboratório de acetólise – Seção de Dicotiledôneas – Instituto de Botânica



Centrífuga - Seção de Dicotiledôneas



Capela do Laboratório de acetólise – Seção de Dicotiledôneas

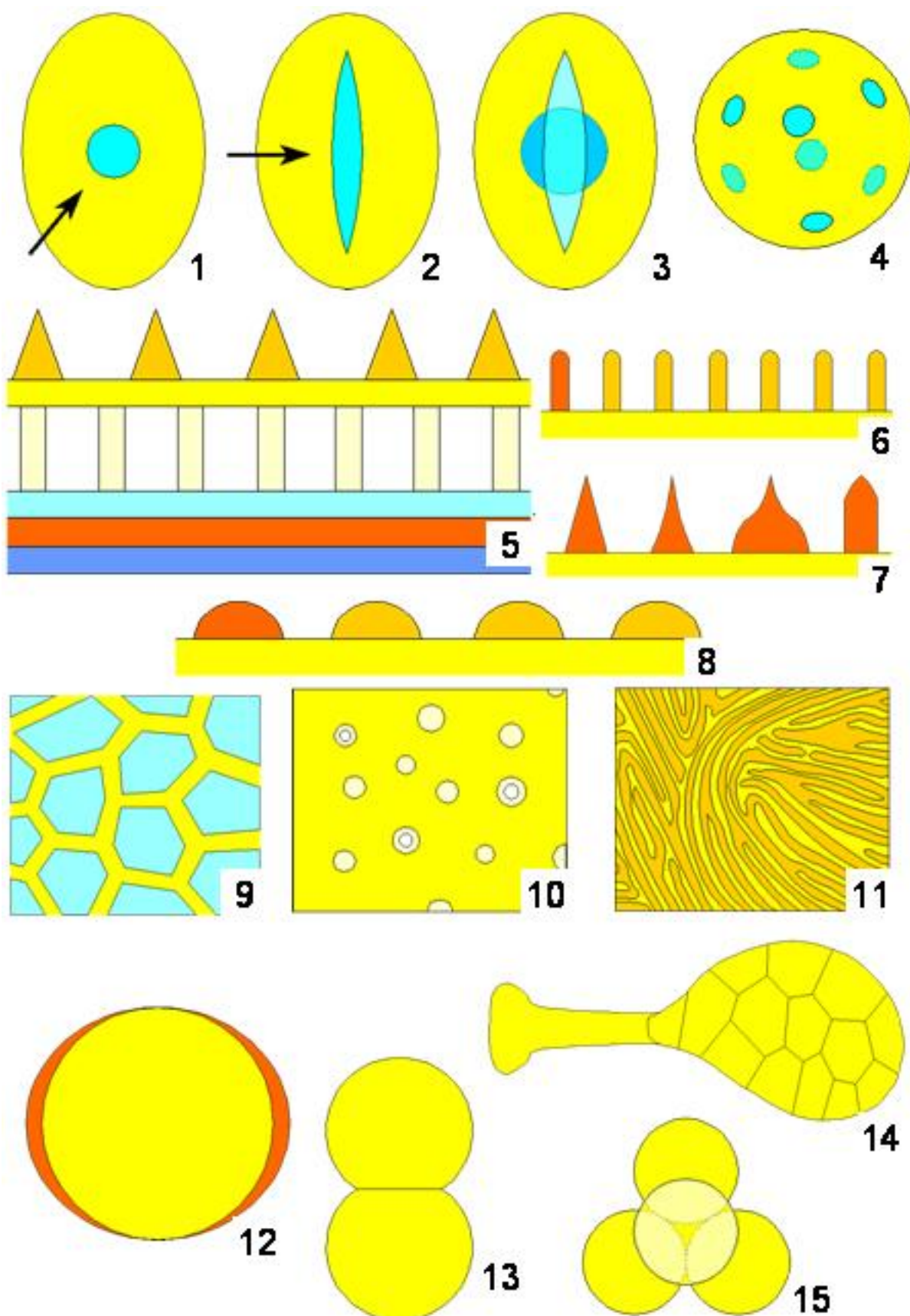


Figura12. 1-15. Esquemas de morfologia polínica (modificado de Punt *et al.* 1994). www.bio.uu.nl/~palaeo/glossary/. 1. Grão de pólen porado. 2. Grão de pólen colpado. 3. Grão de pólen colporado. 4. Grão de pólen pantoporado. 5. Estrutura da exina. 6. Ornamentação baculada. 7. Ornamentação espinhosa. 8. Ornamentação verrugosa. 9. Ornamentação reticulada. 10. Ornamentação foveolada. 11. Ornamentação estriada. 12. Grão de pólen em mônade. 13. Grãos de pólen em díade. 14. Grãos de pólen em polínia. 15. Grãos de pólen em tétrade.

Literatura consultada:

- Agarez, F.V., Rizzini, C.M. & Pereira, C.** 1994. Botânica Angiospermae. 2ª Ed. Âmbito Cultural, Rio de Janeiro.
- Barroso, G.M., Peixoto, A.L., Ichaso, C.L., Costa, C.G., Guimarães, E.F. & Lima, H.C.** 1986. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, Viçosa, v. 3.
- Barth, O.M. & Melhem, T.S.** 1988. Glossário Ilustrado de Palinologia. Campinas, Editora da Universidade Estadual de Campinas.
- Cronquist, A.** 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- Erdtman, G.** 1952. Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms. Almqvist & Wiksell, Stockholm.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A. & Stevens, P.F.** 1999. Plant Systematics: a Phylogenetic approach. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.E. & Donoghue, M.J.** 2002. Plant Systematics: a Phylogenetic approach. 2ªed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Melhem, T.S.** 1978. Palinologia suas aplicações e perspectivas no Brasil. Coleção Museu Paulista, Série Ensaio 2: 325-368.
- Melhem, T.S. & Matos, M.E.R.** 1972. Variabilidade de forma dos grãos de pólen de *Eriope crassipes* Benth. Labiatae. Hoehnea 2: 1-10.
- Melhem, T.S., Cruz-Barros, M.A.V., Corrêa, A.M.S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M.S.F. & Golçalves-Esteves, V.L.** 2003. Variabilidade Polínica em Plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo 16: 1-104.
- Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S. & Le Thomas, A.** 1994. Glossary of pollen and spore terminology. Utrecht, L.P.P. Foundation. (versão on line <http://www.bio.uu.nl/~palaeo/glossary/glos-int.htm>).
- Raven, P.H., Evert, R.F. & Eichhorn, S.E.** 2001. Biologia Vegetal – 6ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Raynal, A. & Raynal, J.** 1971. Une technique de préparation des grains de pollen fragiles. Adasonia ser. 2, 11: 77-79.
- Souza, V.C. & Lorenzi, H.** 2005. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- Stuessy, T.F.** 1990. Plant Taxonomy: The systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press, New York.
- Walker, J.W. & Doyle, J.A.** 1975. The bases of Angiosperm Phylogeny: Palynology. Annals of the Missouri Botanical Garden 62: 664-723.
- Wodehouse, R.P.** 1935. Pollen grains. McGraw Hill, New York.