

# Implantação de uma palinoteca no herbário *Mandevilla* sp.

## *Implementation of a palinoteca in the herbarium Mandevilla sp.*

**Higor Antonio Domingues**

Graduando do curso de Ciências Biológicas (UNIPAM).

E-mail: higorantonio@unipam.edu.br

**Norma Aparecida Borges Bitar**

Professora orientadora (UNIPAM).

E-mail: norma@unipam.edu.br

---

**Resumo:** A palinologia baseia-se no estudo das características morfológicas dos grãos de pólen e na comparação entre eles. Os conhecimentos de morfologia polínica permitem realizar estudos quanto à identificação dos táxons correspondentes em nível de gênero, de família ou de táxons superiores. Alguns caracteres morfológicos possuem grande importância na identificação de espécies, como as unidades polínicas, as aberturas e as esculturas da parede. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo coletar flores e botões florais e montar um acervo de lâminas, para estudo desses caracteres da morfologia polínica. Os espécimes foram coletados entre os meses de maio a julho de 2013. A preparação para a análise microscópica dos grãos de pólen foi a acetólise, com adequações. A identificação taxonômica dos grãos foi realizada de acordo com Salgado-Labouriau (1973) e Carvalho (2004). A observação foi feita por microscopia óptica, com aumentos de 40, 100 e 400 vezes. Foram confeccionadas 205 lâminas polínicas, a partir de 49 espécies, distribuídas em 26 famílias e 43 gêneros. Das espécies estudadas, 39 são mônades, uma tétrade tetraédrica e três poliades. Foram encontrados sete tipos de aberturas nos diferentes grãos de pólen e algumas variações dentro de cinco espécies, além de quatro ornamentações diferentes. A estratégia experimental utilizada neste trabalho permitiu observar alguns caracteres da morfologia polínica. No entanto, é importante ressaltar que futuras investigações para observação de outros caracteres morfológicos são importantes na descrição polínica. Não se pôde identificar a morfologia polínica de todas as espécies, pois alguns grãos de pólen se desfragmentaram com o tratamento aplicado.

**Palavras-chave:** Grãos de pólen. Palinologia. Morfologia polínica.

**Abstract:** Palynology is based on the observation of morphological characteristics of pollen grains and in the comparison between them. Knowledge of pollen morphology allows conducting studies as the identification of corresponding taxa level or gender or family, or higher taxa. Some morphological characters have great importance for species identification, such as pollen units, the openings and wall sculptures. Thus, this study aimed to collect flowers and flower buds and assemble a collection of slides, for the study of these characters of the pollen morphology. The specimens were collected from May to July, 2013. The preparation for microscopic pollen grains analysis was the acetolysis, with adaptations. The taxonomic identification of grains was performed according to Salgado-Labouriau (1973) and Carvalho (2004). The observation was made by optical microscopy, with increases of 40, 100 and 400 times. 205 pollen slides from 49 species were prepared, distributed in 26 families and 43 genera. 39 species studied were monads, a tetrahedral tetrad and three polyads. Seven types of

openings were found in different pollen grains and some variations within five species, in addition to four different adornments. The experimental strategy used in this work allowed us to observe some of the characters of the pollen morphology. However, it is important to point out that future investigation, to observe other morphological characters, is important in the pollen description. We were unable to make findings as to all species because some pollen grains defragmented with the treatment used.

**Keywords:** Pollen grains. Palynology. Pollen morphology.

## 1 INTRODUÇÃO

Nomear os órgãos vegetais de uma planta é uma tarefa presente em qualquer cultura humana, principalmente pela necessidade de discriminar as partes necessárias para o nosso consumo. O termo “morfologia” é atribuído a Johann Wolfgang von Goethe, que se interessou pela variedade de formas vegetais após conhecer a obra de Linnaeus, *Philosophia botanica*. Em sua obra principal, “*Versuch die Metamorphose der Pflanzen zu erklären*”, Goethe mostrava que, apesar das diferenças anatômicas, os órgãos vegetais tinham uma organização essencial, o Bauplan (GOETHE, LINNAEUS; *apud* GONÇALVES; LORENZI, 2011). Os primeiros sistemas filogenéticos surgiram após as ideias postuladas por Darwin em 1859, devido ao seu livro “A Origem das Espécies” (DARWIN, 1859; *apud* SOUZA; LORENZI, 2008).

O estudo relacionado às plantas vem se desenvolvendo especialmente nos últimos três séculos. A Botânica é uma importante disciplina científica (MARTINS-DA-SILVA, *s.d.*; JOLY, 1998; WIGGERS; STANGE, 2008; MACHADO; BARBOSA, 2010; DIAS; BITAR, 2012), pois os vegetais apresentam grande utilidade aos seres humanos. A Sistemática surgiu da necessidade de organizar as espécies e estudar as suas diversidades. Ela se baseia em variações morfológicas, estabelecendo relações evolutivas, permitindo uma classificação ideal para as plantas (MARTINS-DA-SILVA, *s.d.*; WIGGERS; STANGE, 2008; SOUZA; LORENZI, 2008; MACHADO; BARBOSA, 2010; GONÇALVES; LORENZI, 2011; DIAS; BITAR, 2012).

As coleções biológicas possuem valor inestimável para qualquer trabalho de pesquisa, relacionando aspectos de diversidade, estrutura, classificação e distribuição de organismos. Elas formam a base do conhecimento sobre composição, distribuição e conteúdo da biodiversidade, sendo que essas coleções são as fontes primárias de materiais para estudos básicos e aplicados, evidenciando, assim, sua importância. Acervos como herbário, xiloteca, carpoteca, espermateca e palinoteca são alguns exemplos de coleções botânicas (WIGGERS; STANGE, 2008; MACHADO; BARBOSA, 2010; DIAS; BITAR, 2012).

O presente estudo tem relevância, uma vez que busca implantar uma coleção de lâminas de grãos de pólen (Palinoteca) que servirá de referência para o Herbário *Mandevilla* sp., do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), disponibilizando fontes para a realização de estudos, pesquisas e auxiliando na geração de conhecimento polínico das espécies presentes dentro e fora do campus.

No século XX, o estudo dos grãos de pólen ganhou destaque devido ao seu reconhecimento como ciência (PLÁ-JUNIOR *et al.*, 2006). Essa área passou a ter importância na identificação de famílias e gêneros botânicos, na descoberta das alergias

causadas pelo pólen e no reconhecimento dessa estrutura como um ótimo guia fóssil. Atualmente, o estudo dos grãos de pólen passou de um simples apêndice da Taxonomia Vegetal para constituir uma ciência à parte, a Palinologia (SALGADO-LABOURIAU, 1973; GASPARIANO; CRUZ-BARROS; 2006).

Os conhecimentos de morfologia polínica permitem realizar estudos mais amplos quanto à identificação dos *taxa* correspondentes, sendo possível identificar as espécies vegetais, em nível de gênero, de família ou de *taxa* superiores (Palinotaxonomia). Uma vez identificados os *taxa*, podem-se aplicar esses conhecimentos a estudos de associações vegetais e de microfósseis (Ecopalínologia e Paleoecopalínologia). Conhecidas essas associações, podem-se tirar conclusões quanto ao meio ambiente, levando a informações climáticas atuais e passadas, podendo-se fazer previsões para o futuro (CARVALHO, 2004).

A Palinologia Aplicada é referente à atualidade (Actuopalínologia). Os conhecimentos de morfologia polínica podem ser aplicados em estudos relacionados a abelhas, mel e própolis (Melissopalínologia), bem como na área médica, tratando-se de alergias, a polinose, sabendo que alguns grãos de pólen são dispersos pelo vento (Aeropalínologia) (CARVALHO, 2004).

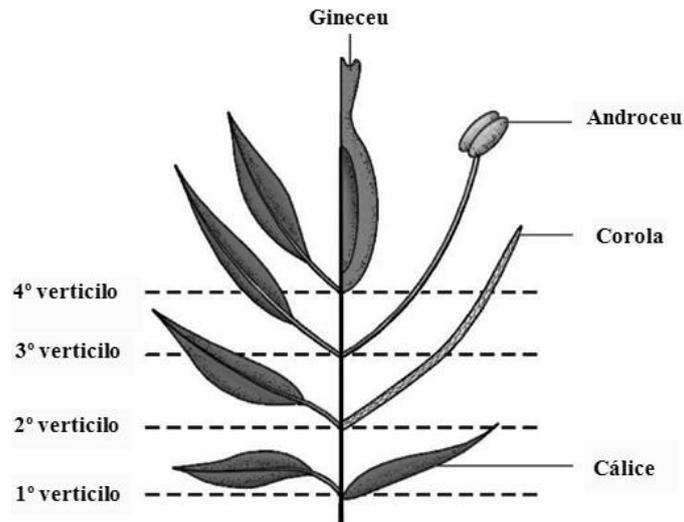
Também é de domínio público que a qualidade dos combustíveis fósseis está relacionada aos organismos que os originaram. As espécies vegetais podem ser reconhecidas através de estudos de sedimentos, relacionados a associações polínicas, como também caracterizando a época de formação (Paleopalínologia), sendo esse estudo um instrumento indispensável em pesquisas no setor petrolífero. Podem, ainda, ser de grande auxílio na sedimentologia, na interpretação da origem dos sedimentos finos e do tempo de sedimentação, na datação de sedimentos continentais, lacustres, fluviais e deltaicos, na correlação de estratos marinhos e continentais e na identificação de paleoambiente, envolvendo mudanças climáticas e sucessões ecológicas pelos palinogramas característicos de cada época (CARVALHO, 2004).

Objetivou-se identificar e classificar os grãos de pólen de acordo com a sua unidade polínica, número e posição de aberturas e ornamentação das flores encontradas no campus do UNIPAM, bem como no perímetro urbano da cidade e, a partir daí, implantar um arquivo polínico das plantas encontradas, contribuindo com o acervo do Herbário *Mandevilla* sp.

## 2 REVISÃO TEÓRICA

### 2.1 FLOR

Nas flores, se alojam os grãos de polén. Elas se originam a partir de uma gema florífera, constituída de folhas modificadas (antófilos) que se diferenciam, dando origem aos quatro verticilos florais: cálice, corola, androceu e gineceu, conforme mostra a figura 1 (SHOUTZ, 1968; KRAMER; KOZLOWSK, 1972; MODESTO; SIQUEIRA, 1981). A maioria dos botânicos considera a flor como um ramo modificado e suas partes componentes homólogas às folhas (USP, 2002). As pétalas são nutridas a partir de um único feixe vascular, assim como os estames, reforçando a hipótese de que sua gênese é a partir destes, que se tornaram estéreis (SILVEIRA, 2004).

**Figura 1:** Os quatro verticilos florais

Fonte: PLÁ JÚNIOR *et al.*, 2006.

O terceiro verticilo floral (androceu) representa o aparelho reprodutor masculino da flor. Ele é constituído de antera, filete e conectivo. A antera é a parte mais desenvolvida dos estames, constituindo a parte fértil, podendo ser observada em variadas formas. O filete é a haste que sustenta a antera, podendo, em certas *taxa*, não estar presente. O conectivo é o tecido vascularizado que une as duas tecas da antera, originando uma nervura (MODESTO; SIQUEIRA, 1981).

Os estames se iniciam como primórdios estaminais recobertos por epiderme, vascularizados apenas pelo conectivo. Na extremidade do primórdio estaminal, inicia-se a formação de pequenas saliências, divididas por uma camada de células altamente vacuolizadas. Cada metade origina uma teca e, no seu interior, ocorre a produção de tecido esporogênico, envolvido pelo *tapetum*, cuja função é nutrir esse tecido e produzir a esporopolenina (SALGADO-LABOURIAU, 1973; SILVEIRA, 2004).

Nas anteras, existem quatro regiões diferenciadas, contendo células esporógenas. Essas regiões são os microsporângios (sacos polínicos) e contêm um tipo especial de célula (célula-mãe do micrósporo ou microsporócito) que se divide, através de meiose, em quatro células haploides (micrósporos). Eles são envolvidos, inicialmente, pela primexina e quando amadurecem, se incorporam ao *tapetum* da antera (CARVALHO, 2004) e passam a ser envolvidos pela esporoderme (SILVEIRA, 2004), rica em esporopolenina, que impede a dessecação do gametófito (SALGADO-LABOURIAU, 1973; SILVEIRA, 2004; CARVALHO, 2004).

Após uma divisão mitótica do micrósporo, ocorre a formação de dois núcleos e o microsporócito passa a ser grão de pólen (microgametófito) (SHOUTZ, 1968; SALGADO-LABOURIAU, 1973; MODESTO; SIQUEIRA, 1981; USP, 2002; AGUIAR, 2012; CARVALHO, 2004). Nas anteras maduras, o *tapetum* sofre deiscência, sendo que em cada teca se encontra somente uma loja polínica, resultante da união de dois sacos polínicos laterais, permitindo a disseminação dos grãos de pólen (MODESTO, SIQUEIRA, 1981).

## 2.2 PÓLEN

Desde a antiguidade o grão de pólen já era conhecido e utilizado como fonte de alimento (PLÁ JÚNIOR *et al.*, 2006). Conforme a melhoria no desenvolvimento da microscopia (SALGADO-LABOURIAU, 1973), naturalistas do século XVII se interessaram pelos grãos. Um dos primeiros a estudá-los foi Francis Bauer (1758- 1840), catalogando 181 espécies de plantas (BAUER, 1840 *apud.* PLÁ-JUNIOR *et al.*, 2006). À medida que progredia o aperfeiçoamento da óptica, foi possível se empregar as primeiras generalizações (SALGADO-LABOURIAU, 1973). O anatomista Fritzsche (1837; *apud.* JUNIOR *et al.*, 2006) nomeou as duas camadas da parede do grão de pólen, exina, a mais externa, e intina, a mais interna (FIGURA 3) (BARTH, 1964; SHOUTZ, 1968; SALGADO-LABOURIAU, 1973; RIVAS, 1976; MODESTO; SIQUEIRA, 1981; PLÁ JÚNIOR *et al.*, 2006; GASPARIANO; CRUZ-BARROS, 2006; QUEIROZ, 2012).

## 2.3 PALINOLOGIA

Hyde, primeiramente, definiu a palinologia como parte da botânica que estuda os grãos de pólen e os esporos. Em 1945, juntamente com Williams, definiu o termo Palynology como o estudo morfológico dos pólenes das fanerógamas e esporos das criptógamas, bem como sua dispersão e aplicação. Basearam-se no grego “*paluno*” (espalhar, difundir farinha, pó, cognato do Latim, *pollen*, *inis* e *polis*, *inis* (flor de farinha, farinha fina) (HYDE; WILLIAMS 1945).

Erdtman (1952) propôs o termo de forma mais restrita, como a ciência do pólen e do esporo, principalmente das paredes dessas células e não do seu interior vivo, sendo esse o conceito, hoje, corretamente adotado na Palinologia (SALGADO-LABOURIAU, 1973). A morfologia polínica moderna foi marcada pelo método de fossilização artificial dos grãos de pólen e esporos, apresentada pelo mesmo autor em 1960, ampliando os estudos Palinológicos, que foram seguidos de trabalhos e obras científicas (CARVALHO, 2004).

## 2.4 PREPARAÇÃO DOS GRÃOS DE PÓLEN

Os estudos de morfologia polínica podem ser feitos a partir de plantas vivas e/ou herborizadas. Existem muitos métodos de preparação polínica para observação ao microscópio óptico. Sabendo que somente a exina é necessária para observação morfológica, devido à sua capacidade elástica, que modifica sua forma conforme seu grau de hidratação, os resultados não podem ser baseados em grãos frescos, corados ou não, e montados em água (SALGADO-LABOURIAU, 1973).

Rizzini (1947) e Gomes (1955) apresentaram métodos que desidratam os grãos de pólen e os montam em bálsamo. Wodehouse (1935) mantinha os grãos de pólen túrgidos e os montava em gelatina glicerinada. Ambos apresentavam desvantagens, pois o citoplasma e as inclusões, que se encontram dentro da célula, não são eliminados e fazem sombra sobre a exina, quando observada em pequeno aumento. Os grãos de pólen preparados com esses métodos apresentam-se opacos ao microscópio, não podem ser examinados em grandes aumentos, além de serem empregados somente nos

estudos de grãos de pólen atuais. Outros métodos tornam as membranas límpidas e parcialmente incolores, mas uma parte da elasticidade da membrana permanece (SALGADO-LABOURIAU, 1973).

Um método muito usado pelos palinologistas, apresentado por Faegri e Ivesen (1950), que consiste no tratamento dos grãos de pólen com potassa cáustica a 10%, pode ser aplicado em material atual ou fóssil. O ataque de KOH diluído não elimina inteiramente a intina e o conteúdo celular. Entretanto, esse método não pode ser deixado de lado, pois envolve uma reação menos agressiva que outros métodos mais vantajosos, sabendo que sua preparação é indicada para grãos de pólen mais delicados, como é o caso de algumas Apocynaceae e de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) (SALGADO-LABOURIAU, 1973).

Sabendo que os grãos de pólen devem ser todos preparados por somente um método (pois quando são preparados por métodos diferentes, eles podem apresentar tamanhos variados), a acetólise, proposta por Erdtman (1960), é a que apresenta mais vantagens. Ela consiste em reagir à esporopolenina em anidrido acético, um meio ácido, podendo ser empregada tanto em material fóssil, quanto em material atual. A reação química destrói simultaneamente a intina e o conteúdo celular, tornando possíveis os exames. O tratamento deixa a exina quimicamente estável, sendo que suas características morfológicas servem para identificação dos grãos de pólen. Assim, a morfologia polínica pode ser estudada com mais detalhes (SALGADO-LABOURIAU, 1973).

## 2.5 MONTAGEM PERMANENTE DOS GRÃOS

Os grãos podem ser montados em qualquer meio em que o índice de refração seja conveniente. O Bálsamo do Canadá, a gelatina glicerinada, o meio Harleco, dentre muitos outros produtos comerciais, podem ser empregados na montagem das lâminas permanentes (SALGADO-LABOURIAU, 1973).

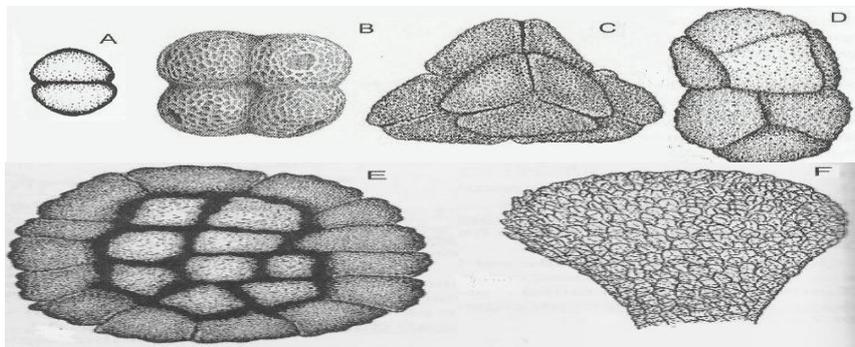
Todos os grãos devem ser montados em somente um meio, pois, se forem fixados em diferentes substâncias, podem apresentar diferentes graus de hidratação. A gelatina glicerinada de Kisser (1935) é utilizada na maioria dos trabalhos de palinologia, além de ser facilmente preparada, podendo ser usada logo após a acetólise e guardada na geladeira por anos (SALGADO-LABOURIAU, 1973).

## 2.6 MORFOLOGIA POLÍNICA

O estudo dos grãos de pólen baseia-se, principalmente, na observação das suas características morfológicas (CARVALHO, 2004; GASPARIANO; CRUZ-BARROS; 2006; ROJAS *et al.*, 2006) e na comparação dessas com outros grãos de pólen. Alguns caracteres da morfologia polínica possuem grande importância na sua identificação, como as aberturas, a estrutura e escultura da parede e a unidade polínica (GASPARIANO; CRUZ-BARROS; 2006; ROJAS *et al.*, 2006). O estudo da morfologia polínica tem início na formação dos grãos a partir do tecido não diferenciado das anteras jovens (arquespório) (SALGADO-LABOURIAU, 1973; CARVALHO, 2004; PLÁ JÚNIOR *et al.*, 2006).

Os grãos de pólen em sua maioria são isolados (mônades). Outros são permanentemente unidos, oriundos de uma única célula mãe. Esses grãos associados podem formar grupos de dois (díades) ou grupos de quatro (tétrades), sendo que o conjunto desse último pode formar ditétrades ou octades, podendo também formar raramente grupos com mais de quatro grãos (políades) e, até mesmo, ocupar o espaço total de uma teca (políneas). Essas unidades polínicas podem ser observadas na Figura 2 (SALGADO-LABOURIAU, 1973; BARTH, 1964; CARVALHO, 2004; PLÁ-JUNIOR *et al.*, 2006; GONÇALVES; LORENZI, 2011; QUEIROZ, 2012).

**Figura 2:** Unidades polínicas: díade, tétrade, ditétrade, políade e polínea (A) Díade. (B) Tétrade tetragonal de *Typha latifolia* (TYPHACEAR). (C) Tétrade tetraédrica de *Kielmeyera angustifolia* (TERNSTROEMIACEAE). (D) Ditétrade de *Pityrocarpa affinis* (FABACEAE). (E) Políade de *Inga edulis* (FABACEAE) (F) Polínea de Orchidaceae, cujas subunidades são formadas de tétrades.

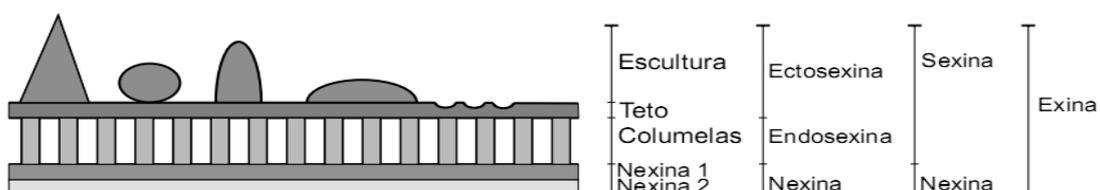


Fonte: CARVALHO, 2004.

## 2.7 CARACTERES ESTRUTURAIIS

A parede de um grão de pólen (esporoderma) é constituída fundamentalmente de duas camadas distintas: a intina, de natureza celulósica, junto à membrana plasmática, e a exina, composta de esporopolenina. De dentro para fora elas são formadas, na maioria dos grãos, por uma camada de endexina (nexina-2), seguida da nexina-1, essas duas compreendem a camada interna não esculpada (nexina) e uma camada externa geralmente esculpada (sexina). A sexina é composta pela camada mais externa (teto) e uma para sustentação da sexina, a colúmela (FIGURA 3) (CARVALHO, 2004).

**Figura 3:** A exina e suas subdivisões.



Fonte: PLÁ JÚNIOR *et al.*, 2006.

Alguns grãos de pólen apresentam uma cavidade devido à separação de duas camadas da exina, sendo denominados cavados. Entre esses, tem-se pólen com separação entre as duas camadas da exina (os chamados sacados), permitindo a formação de expansões semelhantes a sacos aeríferos. Esses podem formar uma expansão aerífera (monossacados), duas (dissacados) ou mais expansões (polissacados) (CARVALHO, 2004).

## 2.8 CARACTERES ESCULTURAIIS

A sexina é a parte mais ornamentada, exceto em caso de pólen lisos, os psilados (CARVALHO, 2004). Os grãos ornamentados podem apresentar clavas, elementos cuja extremidade superior é mais larga que a base (clavado); retículos, muros que circundam espaços maiores que  $1\mu\text{m}$  (reticulado); escabras, grânulos com menos de  $1\mu\text{m}$  de altura (escabrado); espinhos cuja altura é igual ou maior que  $1\mu\text{m}$  (espinhoso); rugas com protuberâncias variadas (enrugado); verrugas não pontiagudas nem constrictas na parte basal, cujo diâmetro, na base, é geralmente maior do que o diâmetro transversal (verrugoso); rúgulas distribuídas de forma irregular, sendo pelo menos duas vezes mais alto do que largo (rugulado); favéolas no teto, com mais de  $1\mu\text{m}$  de diâmetro e de distância entre os mesmos (faveolado); gemas com diâmetro basal igual ou maior que a altura (gemado); estrias mais ou menos paralelas, com comprimento aproximado ou maior que a altura (estriado); retículos negativos (fossulado); báculos de ápices e lados arredondados, isolados da ornamentação da exina (baculado); cristas mais ou menos paralelas, mais estreitas que os espaços que as separam (cicatricoso) e cavidades ou canais mais ou menos paralelos, de diâmetro menor que os espaços entre si (canaliculado-fossulado) (CARVALHO, 2004).

## 2.9 TIPOS DE ABERTURA

As interrupções na sexina dos grãos de pólen (ectoabertura) (CARVALHO, 2004; PLÁ JÚNIOR *et al.*, 2006) podem formar uma abertura circular e com distribuição equatorial (poros), uma abertura alongada, em que a relação comprimento/largura é maior que 2:1 (colpos) ou aberturas aproximadamente circulares com distribuição global (forâmen) (SALGADO-LABOURIAU, 1973; BARTH, 1964; CARVALHO, 2004; GASPARIANO, CRUZ-BARROS; 2006; PLÁ JÚNIOR *et al.*, 2006; QUEIROZ, 2012). Podem também apresentar o conjunto dessas duas aberturas (colporos) (JUNIOR *et al.*, 2006), sendo uma interrupção na nexina (endoaberturas) podendo ter sentido ao eixo equatorial (lalongada) ou com sentido ao eixo polar (lolongada) (CARVALHO, 2004; PLÁ JÚNIOR *et al.*, 2006).

Os grãos de pólen também podem ser classificados pelo número e pela posição das aberturas. Esse aspecto morfológico é uma característica exclusiva dos grãos de pólen que possuem zonas mais delgadas da exina por onde emerge o tubo polínico durante a fecundação. Essas aberturas são um caráter constante ao nível da espécie, do gênero e, às vezes, da família ou da ordem (CARVALHO, 2004).

Eles podem não apresentar nenhuma abertura (atremado), um único colpo (monocolpado) ou um poro (monoporado), dois colpos (dicolpado) ou dois poros

(diporado); na região meridional, colpos (zonocolpado), poros (zonoporado) ou ambos (zonocolporado); colpos anastomosados nos pólos (sincolpado) ou com ambos da mesma maneira (sincolporado); um colpo trifurcado, em vista polar e equatorial (tricotomonocolpado), três colpos (tricolpado), três poros (triporado) ou ambos (tricolporado); colpos ditribuídos por toda a superfície (pantocolpado), poros (pantoporado) ou ambos (pantocolporado); ou quatro colpos (tetracolpado) (CARVALHO, 2004).

### 3 METODOLOGIA

Este estudo foi realizado no campus I do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) e no perímetro urbano da cidade de Patos de Minas - MG. O local conta com uma área verde, onde podem ser observadas diversas espécies de plantas floríferas, como os hibiscos e os ipês.

Para o desenvolvimento do estudo, foram coletados flores e botões florais de plantas em época reprodutiva, entre os meses de maio a julho de 2013. Essas flores foram identificadas quanto à família, ao gênero e à espécie a que pertencem e coletados os grãos de pólen para a análise microscópica.

A preparação para a análise microscópica dos grãos de pólen foi feita pelo método de acetólise, proposto por Erdtman (1960), com a diminuição do tempo de fervura dos grãos para um minuto. A execução foi feita no Herbário do UNIPAM.

O processo de acetólise para material fresco ocorreu de acordo com as seguintes etapas:

1) Foram retiradas as tecas, os estames, ou, no caso de flores muito pequenas, os próprios botões já prontos para abrir, e colocados em tubos de vidro com 1 mL de ácido acético glacial. Ficaram nesse reagente, no mínimo, por um dia.

2) Em seguida, foram passados para tubos de centrífuga, uma espécie em cada tubo, numerados de 1 em diante. Foi feita a centrifugação a 1.000 rotações por minuto, durante 5 minutos.

3) Após a centrifugação, o sobrenadante foi decantado.

4) Colocou-se para aquecer em banho-maria.

5) A mistura de acetólise foi preparada contendo nove partes de anidrido acético e uma parte de ácido sulfúrico. O volume de anidrido acético foi colocado em um béquer, onde foi sendo acrescentando o ácido sulfúrico em pequenos jatos, agitando com um bastão de vidro. Só foi preparada a quantidade de mistura necessária para aquela acetólise.

Foi utilizada somente vidraria absolutamente seca, qualquer amostra de pólen que contivesse água foi desidratada antes de se usar a mistura de acetólise. Se à mistura for acrescentada água, pode ocorrer uma reação violenta que lança o conteúdo do tubo para fora, a mais de um metro de distância, podendo quebrar o tubo e causar acidentes pessoais graves.

6) Tomou-se 5 mL da mistura de acetólise que foi distribuída para cada tubo com sedimento, colocando-se um bastão de vidro em cada tubo. Triturou-se cada material de encontro às paredes do tubo utilizando o bastão de vidro, que foi mantido dentro do tubo.

7) Levaram-se os tubos preparados ao banho-maria, começando com a temperatura do banho próximo da fervura e aqueceu-os até a água do banho começar a ferver. Manteve-se o banho-maria fervendo lentamente e foi-se agitando cada tubo com seu bastão. Essa fervura perdurou por um minuto (o banho-maria foi realizado na capela para evitar aspiração nasal dos vapores, sabidamente irritantes e tóxicos).

8) Após o tempo necessário para cada espécie de grão de pólen, parou-se o aquecimento e os tubos com as preparações foram colocados nas caçambas do centrifugador. Esse foi tarado usando o restante da mistura e o preparado foi centrifugado por 5 minutos a 1.000 rotações por minuto.

9) Tirou-se o sobrenadante para um recipiente à parte, lançando-se fora a mistura no solo (não jogue os resíduos no esgoto da pia, para evitar a corrosão dos encanamentos).

10) Foi acrescentada água destilada ao sedimento até completar o volume de 10 mL e o bastão de vidro foi recolocado em cada tubo.

11) Agitou-se cada tubo e acrescentou-se 1 a 2 gotas de álcool etílico ou acetona, tornando-se a agitar.

12) Centrifugou-se e decantou-se a 1.000 rotações por minuto, durante 5 minutos.

13) Acrescentou-se ao sedimento a mistura de água com glicerina em partes iguais. Deixou-se ficar por meia hora ou até o dia seguinte.

14) Centrifugou-se e, ao decantar, colocou-se o tubo de boca para baixo num béquer com papel mata-borrão no fundo.

15) Iniciou-se a montagem das lâminas para a implantação da palinoteca do Herbário *Mandevilla* sp.

Os grãos de pólen foram montados em gelatina glicerinada de Kissler (1935) e fixados com base, em lâminas de microscopia. A observação do material foi realizada em microscopia óptica, com aumentos de 40, 100 e 400 vezes. Os grãos foram classificados quanto à unidade polínica, à escultura e ao tipo e número de suas aberturas. A identificação taxonômica dos grãos de pólen foi feita de acordo com Barth (1964), Salgado-Labouriau (1973) e Carvalho (2004).

#### 4 RESULTADOS

Foram confeccionadas 205 lâminas polínicas, a partir de 49 espécies, distribuídas em 26 famílias e 43 gêneros. As Bignoniaceae foram as mais representativas, com oito (8) espécies, seguida de Fabaceae (7), Anacardiaceae (3), Apocynaceae (3), Asteraceae (3), Malvaceae (2), Myrtaceae (2) e Oxalidaceae (2), sendo que as outras famílias estudadas estavam representadas apenas por uma espécie. Os gêneros mais expressivos foram *Averrhoa* (2), *Caesalpinia* (2), *Emilia* (2), *Handroanthus* (2) e *Tabebuia* (2), sendo os outros gêneros representados apenas por uma espécie. O material foi tombado na palinoteca do Herbário *Mandevilla* sp. do UNIPAM e todos os resultados estão expressos na Tabela 1, em apêndice.

Das espécies analisadas, 39 apresentaram unidades polínicas organizadas em mônades. Em *Rhododendron* sp. (Ericaceae) estão em tetrade tetraédrica, como todas as espécies dessa família, que pode ser comprovado por Barth e Barbosa (1972) e em *Inga*

*edulis* (Fabaceae) em políade, assim como descrito por Barth e Yoneshigue (1966) e Carvalho (2004), como também em *Anadenanthera falcata*, *Calliandra brevipes*.

Quanto ao número e ao tipo de abertura, foram observadas variações dentro da mesma espécie em *Ixora* sp., em *Eugenia dysenterica*, em *Emilia sonchifolia*, em *Myroxylon balsamum* e em *Tabebuia roseoalba*. Respectivamente, encontrou-se: trie-tetracolpado; atremado, monocolpado, monoporado; tricolpado, tricolporado; tricolpado e triporado; e tricolpado e triporado. As variações em *Ixora* sp. podem ocorrer devido ao fato de existir mais de uma espécie dentro do Campus, de acordo com um estudo fitossociológico da área paisagística do UNIPAM, realizado por Dias (2013).

As outras aberturas observadas foram pantoporado em *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae), característico da família, descrito por Salgado-Labouriau (1973). Pentacolpado em *Tibouchina mutabilis*. Tetracolpado em *Citrus sinensis* e em *Catharanthus roseus*. Tricotomocolpado em *Callistemon* sp., em *Licania tomentosa* e em *Averrhoa bilimbi*. Tricolporado em *Leonotis nepetifolia* e *Bidens pilosa* descrito também como tri-tetracolporado, por Galvão, et. al. (2009). Tricolpado em *Spathodea campanulata*, *Cybistax antisiphilitica*, *Caesalpinia pluviosa*, *Punica granatum*, *Tabebuia impetiginosa*, *Bougainvillea* sp., assim como todas as espécies desse gênero analisadas por Barth e Barbosa (1972), *Pyrostegia venusta*, *Nerium oleander*, *E. fosbergii*, *Ceiba speciosa*, *Caesalpinia echinata* e *Grevillea robusta*. E monocolpado em *Phoenix roebelenii*, *Lilium* sp. e *D. regia*.

Quanto à escultura da parede, foram observados grãos faveolados em *Citrus sinensis*, *Lilium* sp., *Delinnox regia* e *C. echinata*. Pscilados em *L. tomentosa*, *T. mutabilis*, *Rhododendron* sp., *Tabebuia impetiginosa*, *I. edulis*, descrito também como ondulado em algumas partes do grão, por Barth e Yoneshigue (1966) e *Eugenia dysenterica* podendo também ser granulada nessa família (SALGADO-LABOURIAU, 1973). Espinhoso em *H. rosa-sinensis* característico da família, descrito por Salgado-Labouriau (1973), *E. sonchifolia*, *E. fosbergii* e *B. pilosa*. Baculado em *P. venusta*, *S. campanulata*, *Cybistax antisiphilitica*, *Caesalpinia pluviosa* e *Ceiba speciosa*.

## 7 CONCLUSÃO

A estratégia experimental utilizada neste trabalho permitiu observar alguns caracteres da morfologia polínica. No entanto, é importante ressaltar que futuras investigações para observação de outros caracteres morfológicos como o tamanho, a forma, a posição das aberturas, a estratificação da exina, dentre outros, são importantes na identificação dos grãos de pólen. A utilização de outras metodologias, como o ataque com KOH a 10%, deve ser adotada na execução dos trabalhos, pois alguns grãos, como os de *Mangifera indica*, *Strelitzia* sp., *Tecoma stans*, dentre outros, não resistiram ao tratamento aplicado, desfragmentando-se durante a acetólise, como também na montagem das lâminas.

Algumas espécies não foram conclusivas, pois se sabe que alguns grãos não resistem ao tratamento aplicado (SALGADO-LABOURIAU, 1973), sendo necessária a utilização de outros métodos. As esculturas de algumas espécies não foram descritas, como também o número e o tipo de abertura, devido à desintegração dos grãos e à dificuldade de observação dessas características morfológicas. O aumento em 1000 vezes com o óleo de imersão deve ser adotado na observação da escultura, com cortes

ópticos em várias camadas dos grãos (SALGADO-LABOURIAU, 1973). Assim, a caracterização da ornamentação deve se tornar mais fácil e conclusiva. Estratégias apresentadas por Salgado e Labouriau (2007), em seu livro *Critérios e Técnicas para o Quaternário*, devem ser adotadas nas metodologias, diminuindo, com isso, o número de resultados inconclusivos.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, C. *Botânica: para Ciências Agrárias e do meio ambiente*. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, 2012.

BARTH, O. M. *Glossário palinológico: parte complementar ao "Catálogo sistemático dos pólenes das plantas arbóreas do Brasil meridional"*. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 1964.

BARTH, O. M.; BARBOSA, A. F. *Catálogo sistemático dos pólenes das plantas arbóreas do Brasil meridional: XVI – Ericaceae*. Rio de Janeiro: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1972.

\_\_\_\_\_. *Catálogo sistemático dos pólenes das plantas arbóreas do Brasil meridional: XIV – Nyctaginaceae e Phytolaccaceae*. Rio de Janeiro: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1972.

BARTH, O. M.; YONESHIGUE, Y. *Catálogo sistemático dos pólenes das plantas arbóreas do Brasil meridional: VII – Leguminosae (Mimosoideae)*. Rio de Janeiro: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1966.

CARVALHO, I. S. (E.) *Paleontologia*. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2004.

DIAS, A. A. V. *Fitossociologia da área paisagística do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM*. 2013. 37. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Centro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas/MG, 2013

DIAS, A. A. V.; BITAR, N. A. B. *Implantação e implementação do herbário "Mandevilla sp." no Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM*. 2012. 24. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Centro Universitário de Patos de Minas, Patos de Minas/MG, 2012.

ERDTMAN, G. *The acetolysis method: a revised description*. [S.l.] Svensk Bot. Tidskr., 1960.

ERDTMAN, G. *Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms*. Waltham: Chronica Botanica, 1952.

FAEGRI, K.; IVERSEN, J. *Textbook of modern pollen analysis*. Copenhagen: Ejnar Munksgaard, 1950.

GALVÃO, M. N.; PEREIRA, A. C. M.; GONÇALVES-ESTEVEZ, B.; ESTEVES, R. L. Palinologia de espécies de Asteraceae de utilidade medicinal para a comunidade da Vila Dois Rios, Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, Brasil. São Paulo: *Acta Bot. Bras.*, 23(1): 247-258. 2009.

GASPARIANO, E. C.; CRUS-BARROS, M. A. V. *Palinologia*. São Paulo: Instituto de Botânica, 2006.

GOMES, Jr., J. C. Contribuição à sistemática das Bignoniáceas brasileiras. [s.l]: *Arq. Serv. Flor*, 1955.

GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. *Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares*. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2011.

HYDE, H. A.; WILLIAMS, D. A. *Palynology*. [s.l]: Nature, 1945.

JOLY, A. B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998.

KISSER, J. Bemerkungen Zum Einschluss in glycerim. Berlim: *Z. Wiss.*, 1935. 51 p.

KRAMER, P. J.; KOZLOWSKI, T. T. *Fisiologia das árvores*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972.

MACHADO, S. R.; BARBOSA, S. B. *Manual de procedimentos*. Botucatu: Herbário Botu, 2010. Disponível em:  
<[http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/Herbario/Manual\\_Herbario\\_BOTU.pdf](http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/Herbario/Manual_Herbario_BOTU.pdf)> Acesso em: 25/dez/2012.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V. *Identificação de espécimes botânicos*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, s.d.

MODESTO, Z. M. M.; SIQUEIRA, N. J. B. *Botânica*. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária LTDA, 1981.

PLÁ JÚNIOR, M. A. P.; CÔRREA, M. V. G.; CANCELI, R. R.; MACEDO, R. B.; BAUERMANN, S. G. *Grãos de pólen: usos e aplicações*. Canoas: ULBRA, 2006.

QUEIROZ, P. F. *Glossário de termos usados em morfologia polínica*. Lisboa: Terra Scenica, 2012.

RIVAS, C. S. de. *Sobre la nomenclatura palinologica: la esporodermis*. Madri: Anales del Instituto de Botánico A. J. Cavanilles, 1976.

RIZZINI, C. T. Estudo sobre as Acanthaceae. Rio de Janeiro: *Bol. Mus. Nac*, 1947.

ROJAS, C. B.; CARDOZO, A. L.; HERNÁNDEZ, L. Ch.; LAPP, M.; RODRÍGUEZ, H.; RUIZ, T. Z.; TORRECILLA, P. *Botánica sistemática: fundamentos para su estudio*. Maracay: Universidad Central de Venezuela, 2006. Disponível em: <<http://www.efn.uncor.edu/departamentos/divbioeco/divveg2/LibroVenezuelaBenitezetal.2006guia-de-botanica-sistemica-edicion-2006.pdf>> Acesso em: 15/nov/2012.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. *Contribuição à palinologia dos Cerrados*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1973.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil baseado em APG III*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

SHULTZ, A. R. *Botânica sistemática*. 3. ed. Porto Alegre: Editora Globo S. A., 1968.

SILVEIRA, F. A. O. *Anatomia vegetal*. Curvelo: Faculdade de Ciências de Curvelo, 2004.

USP. *Introdução à biologia vegetal*. São Carlos: Instituto de Física de São Carlos, 2002. Disponível em: <<http://biologia.ifsc.usp.br/bio3/outros/03-Fisiologia.pdf>> Acesso em: 18/dez/2012.

WIGGERS, I.; STANGE, C. E. B. *Manual de instruções para coleta, identificação e herborização de material botânico*. Laranjeiras do Sul: UNICENTRO, 2008.

WODEHOUSE, R. P. *Pollen grains*. Nova York: McGraw Hill, 1935.

## APÊNDICE

**Tabela 1:** Resultados obtidos: nome da espécie, família botânica, unidade polínica, número e tipo de abertura e escultura da parede.

Espécie	Família Botânica	Unidade Polínica	Número e Tipo de Abertura	Escultura da Parede
<i>Allamanda catartica</i>	Apocynaceae	Mônade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Anadenanthera falcata</i>	Fabaceae	Poliade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Acnistus arborescens</i>	Solanaceae	Mônade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Averrhoa bilimbi</i>	Oxalidaceae	Mônade	Tricotomonocolpado	Inconclusivo
<i>Averrhoa carambola</i>	Oxalidaceae	Mônade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Bidens pilosa</i>	Asteraceae	Mônade	Tricolporado	Espinhoso
<i>Bougainvillea</i> sp.	Nyctaginaceae	Mônade	Tricolpado	Clavado a Faveolado
<i>Caesalpinia echinata</i>	Fabaceae	Mônade	Tricolpado	Faveolado
<i>Caesalpinia pluviosa</i>	Fabaceae	Mônade	Tricolpado	Baculado
<i>Calliandra brevipes</i>	Fabaceae	Poliade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Callistemon</i> sp.	Myrtaceae	Mônade	Tricotomonocolpado	Inconclusivo
<i>Catharanthus roseus</i>	Apocynaceae	Mônade	Tetracolpado	Inconclusivo
<i>Ceiba speciosa</i>	Malvaceae	Mônade	Tricolpado	Baculado
<i>Cybistax antisyphilitica</i>	Bignoniaceae	Mônade	Tricolpado	Baculado
<i>Citrus sinensis</i>	Rutaceae	Mônade	Tetracolpado	Faveolado
<i>Delonix regia</i>	Fabaceae	Mônade	Monocolpado	Faveolado
<i>Dietes bicolor</i>	Iridaceae	Mônade	Monocolpado	Inconclusivo
<i>Emilia fosbergii</i>	Asteraceae	Mônade	Tricolpado	Espinhoso
<i>Emilia sonchifolia</i>	Asteraceae	Mônade	Tricolpado e tricolporado	Espinhoso
<i>Euphorbiaceae</i> sp.	Euphorbiaceae	Mônade	Tricolpado	Inconclusivo
<i>Eugenia dysenterica</i>	Myrtaceae	Mônade	Atremado, monocolpado e monoporado	Pscilado
<i>Grevillea robusta</i>	Proteaceae	Mônade	Tricolpado	Inconclusivo
<i>Handroanthus albus</i>	Bignoniaceae	Mônade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	Bignoniaceae	Inconclusivo	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	Malvaceae	Mônade	Pantoporado	Espinhoso

<i>Inga edulis</i>	Fabaceae	Poliade	Inconclusivo	Pscilado
<i>Ixora</i> sp.	Rubiaceae	Mônade	Tricolpado e tetracolpado	Inconclusivo
<i>Leonotis nepetifolia</i>	Lamiaceae	Mônade	Tricolporado	Inconclusivo
<i>Licania tomentosa</i>	Chrysobalanaceae	Mônade	Tricotomocolpado	Pscilado
<i>Lilium</i> sp.	Liliaceae	Mônade	Monocolpado	Faveolado
<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae	Mônade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Morus nigra</i>	Moraceae	Inconclusivo	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Myroxylon balsamum</i>	Fabaceae	Mônade	Tricolpado e triporado	Inconclusivo
<i>Nerium oleander</i>	Apocynaceae	Mônade	Tricolpado	Inconclusivo
<i>Phoenix roebelenii</i>	Arecaceae	Mônade	Monocolpado	Inconclusivo
<i>Pyrostegia venusta</i>	Bignoniaceae	Mônade	Tricolpado	Baculado
<i>Pennisetum glaucum</i>	Poaceae	Mônade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Punica granatum</i>	Lythraceae	Mônade	Tricolpado	Inconclusivo
<i>Rhododendron</i> sp.	Ericaceae	Tétrade tetraédrica	Inconclusivo	Pscilado
<i>Schinus molle</i>	Anacardiaceae	Mônade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Spathodea campanulata</i>	Bignoniaceae	Mônade	Tricolpado	Baculado
<i>Spondias purpurea</i>	Anacardiaceae	Inconclusivo	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Strelitzia</i> sp.	Strelitziaceae	Inconclusivo	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	Bignoniaceae	Mônade	Tricolpado	Pscilado
<i>Tabebuia roseoalba</i>	Bignoniaceae	Mônade	Tricolpado e tricolporado	Inconclusivo
<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae	Mônade	Inconclusivo	Inconclusivo
<i>Tibouchina mutabilis</i>	Melastomataceae	Mônade	Pentaporado	Pscilado
<i>Tradescantia pallida-purpurea</i>	Commelinaceae	Inconclusivo	Inconclusivo	Inconclusivo

**Fonte:** Amostras coletadas e preparadas para o trabalho