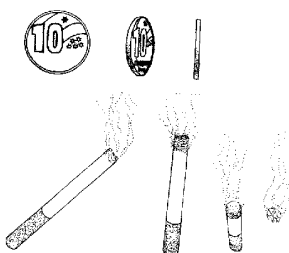


## Analizando o grão de pólen

Por: Mauro Ramalho

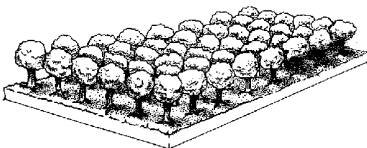
Os grãos de pólen são microscópicos (da ordem de 0,01 a 0,2mm) e têm formas variáveis e típicas para cada espécie vegetal. Por isso, o trabalho de identificação do pólen no mel se baseia na sua morfologia: freqüentemente, a "imagem" é vista ao microscópio óptico (m.o.) ou, mais raramente, ao microscópio de transmissão (que gera imagens tridimensionais de altíssima resolução). Mas, não basta ver a "forma" dos grãos de pólen, é preciso ainda interpretá-la, pois o plano de foco ao m.o. é estreito e há um achatamento da imagem: a figura tridimensional, que é o pólen, aparece como se fosse praticamente bidimensional com estruturas sobrepostas.

Uma visão panorâmica do grão de pólen ao microscópio revela a sua forma num plano do espaço e, neste caso, a posição da imagem à frente do olho do observador sempre é importante. Considere uma moeda e um cigarro; dependendo da posição desses objetos em relação ao observador, a imagem visível modifica-se. Por exemplo, olhando para a cara ou a coroa de uma moeda, vemos uma imagem circular; colocando-a em pé e de perfil vemos um retângulo muito alongado; a partir dessa posição, se a inclinarmos ligeiramente, veremos uma elipse.



Sob a lente do microscópio, os grãos de pólen aparecem em posições as mais variadas, porém duas são básicas: polar e equatorial. As imagens do pólen nessas duas posições, assim como a cara e o perfil retangular da moeda, revelam toda informação que precisamos para compreender a sua forma espacial. Resta desvendar os detalhes da sua parede.

Deixando um pouco de lado as imagens panorâmicas, voltando agora a atenção para a parede dos grãos de pólen, estaremos num mundo sub-microscópico e ainda em face do mesmo problema da posição relativa objeto-observador. Nas imagens superficial e lateral da parede, os elementos da sua estrutura aparecem em diferentes posições e formam desenhos diferentes. Integrando essas duas imagens temos uma idéia da forma tridimensional da parede. Imagine que uma floresta ou uma plantação de milho são dois tipos de paredes de grãos de pólen. Em uma vista aérea ficariam evidenciadas as folhas - um "tapete verde e felpudo", no primeiro caso, ou algo parecido com uma escova, no segundo. Se estivermos no chão, olhando lateralmente, teríamos à frente uma paisagem de troncos ou galhos. Tanto a disposição e a altura dos troncos, em vista lateral, como a superfície verde, revelam imagens distintas do mesmo objeto: a floresta, a plantação de milho ou, por analogia, a parede do grão de pólen.



Para interpretação da imagem em superfície da parede dos grãos de pólen emprega-se o que se convencionou chamar de análise de Luz-Obscureza (LO). E para se ter uma imagem lateral, o corte óptico, que é a focalização do contorno do grão de pólen. Voltaremos a esse tópico mais à frente.

A seguir, discorreremos sobre as principais características usadas na definição das "formas" dos grãos de pólen. Nas descrições foram feitas simplificações e modificações na terminologia técnica para facilitar a compreensão.

### Definindo a morfologia dos grãos de pólen

#### *Grãos isolados e agrupados*

A distinção entre grãos de pólen isolados ou agrupados é o primeiro passo importante para identificação das espécies vegetais que os produzem.

Nas flores, os grãos de pólen são formados em grupos de 4 a partir das células-mãe de grão de pólen, no interior das anteras. Quando atingem a maturidade os grãos de pólen podem permanecer na forma de tétrades (4 células) ou de agrupamentos maiores, ou podem se desprender uns dos outros, ficando isolados.

Os grãos isolados são mais comuns na natureza, seguindo-se os agrupados em tétrades. Outros tipos de grãos agrupados são: díades (duas células), comuns na família Podostemaceae; políades (formas com mais de 4 grãos), que aparecem em Mimosoideae (monjoleiro, esponjinha, dormideira, etc.), Annonaceae, Hypocrataceae, Celastraceae, Gentianaceae, Asclepiadaceae (erva de rato) e Orchidaceae (orquídeas); mássulas (muitos grãos fundidos, de difícil individualização) e políneas (conjunto de grãos de pólen de uma ou mais cavidades da antera), que são comuns nas famílias Asclepiadaceae e Orchidaceae.

As tétrades podem ter vários tipos de arranjos. Quando os grãos estão dispostos todos no mesmo plano, temos uma tétrade uniplanar, que pode ser dos seguintes tipos: tetragonal (a) (espiguinha, *Mimosa daleoides*, p.ex.), romboidal (b), linear (c) ou em forma de T (d). Se os grãos se arranjam em mais de um plano, formam-se tétrades multiplanares dos seguintes tipos: invertida (e) (p.ex., *Mimosa taimbensis*) ou tetraédrica (f) (p.ex., *Mimosa velloziana*).

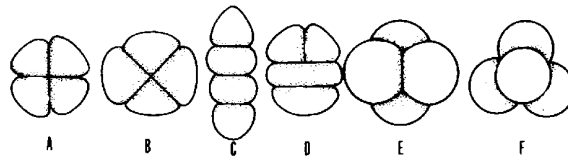


Figura 01. Tipos de arranjos de grãos de pólen na tétrade

Com 4 bolinhas de ping-pong temos uma idéia dos possíveis arranjos dos grãos de pólen nas tétrades: colocando-as lado-a-lado sobre uma mesa formando um “quadrado”, temos a tétrade tetragonal; se deslocarmos lateralmente duas bolinhas, de modo que uma delas toque a junção das outras duas, encontramos a figura romboidal; obtém-se a forma tetraédrica, colocando 3 bolinhas justapostas sobre a mesa, formando um triângulo, e a quarta bolinha acima desse conjunto, no centro do triângulo; na tétrade invertida as bolinhas, duas-a-duas, formam um “X” com um dos braços acima do outro.

Formas típicas e regulares de políades lembram dois pratos sobrepostos de maneira invertida, com oito ou 6 células formando a circunferência maior e quatro ou 3 células, acima e abaixo, representando o fundo dos pratos. Têm essa forma as políades do ingazeiro (*Inga*) e do canudo-de-pito (*Acacia*), p.ex.. Há também políades irregulares, como a esponjinha (*Calliandra twedii*). Polínias e mássulas em geral apresentam formas variáveis, sendo difícil definir o número de grãos presentes.

Os grãos isolados também apresentam uma grande variedade de formas, como veremos mais adiante.

#### *Polaridade e simetria*

Para caracterizar a forma de um grão de pólen é importante reconhecer os seus “pólos”. Este termo foi adotado por analogia à forma da Terra e, da mesma maneira, indica uma posição bem definida.

Após atingir a maturidade, na maioria das espécies vegetais, os grãos de pólen desprendem-se uns dos outros. Quando estão isolados, nem sempre é possível reconhecer os polos. Isto ocorre com alguns grãos esféricos (p. ex. capixingui - *Croton floribundus*), que por isso são chamados de

grãos apolares (sem polos discerníveis). Nos grãos isolados, com polos e região equatorial bem definidos, os polos distal e proximal podem ser semelhantes — grãos isopolares (com polos iguais; iso = igual), como a laranjeira (*Citrus*) — ou diferentes — grãos heteropolares (polos desiguais; hetero = diferente), como o cipó-uva (*Serjania*).

Antes de atingir a maturidade, os grãos de pólen usualmente acham-se reunidos em tétrades. Nesta fase é fácil definir o que se denomina “polaridade” dos grãos de pólen. A face de cada grão que está voltada para o interior da tétrede é o pólo proximal (pólo próximo ao centro) e a face oposta e externa, o pólo distal (distante do centro). A faixa compreendida entre os polos distal e proximal é a região equatorial. A Terra com seus dois polos e o equador fornece uma boa comparação.

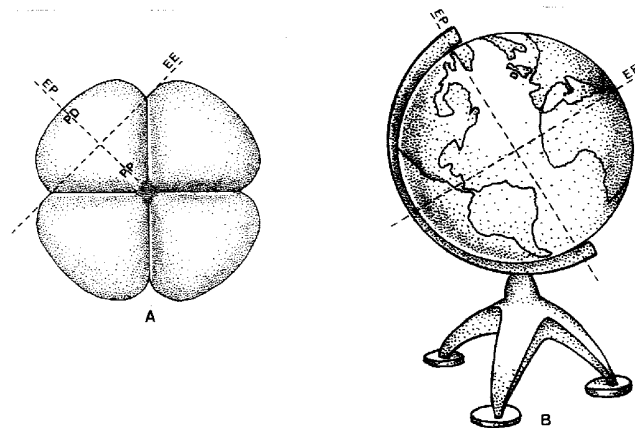


Figura 02. A) Pólos proximal (PP) e distal (PD) e eixos equatorial (EE) e polar (EP) em relação à posição do grão de pólen na tétrede. B) Analogia com o globo terrestre.

A linha imaginária que vai de um pólo ao outro é chamada de eixo polar (P) (imagine o eixo de rotação da Terra, p.ex.). Um corte imaginário, passando de alto a baixo pelo eixo polar, divide a maioria dos grãos de pólen em porções iguais. De acordo com o número de cortes que resultam em metades iguais, diferenciam-se os grãos com simetria bilateral (um ou dois cortes dividem o grão em duas porções iguais) daqueles com simetria radial (vários cortes imaginários dividem o grão em duas metades iguais). Um cachimbo, p.ex., tem simetria bilateral, pois existe apenas um corte (imaginário ou real), ao longo do seu eixo maior, capaz de dividi-lo em 2 porções iguais. Já uma maçã, um prato, p.ex. possuem simetria radial.

### Forma

A forma é o aspecto espacial de qualquer corpo: uma bola é esférica, uma televisão é cúbica. Outros objetos, entretanto, não possuem formas tão fáceis de definir: um prato, um sapato, uma cenoura, etc., e, de maneira geral, os grãos de pólen. Os grãos de pólen não lembram figuras geométricas típicas, por isto estabeleceu-se um critério particular para definir a sua forma, a partir das medidas do eixo polar (P) e do eixo equatorial (E). “P” é o eixo que vai de pólo-a-pólo, como mencionamos acima, e “E” é o diâmetro do grão de pólen exatamente no equador. De acordo com o valor da divisão de “P” por “E” (P/E), Erdtman cunhou alguns termos técnicos para designar a forma dos grãos de pólen: p. ex., se  $P/E = 1$ , o grão é esferoidal, se for menor do que 1, temos um grão oblato e se for maior do que 1 temos o grão prolato. Cada uma dessas classes com algumas subdivisões aparecem na tabela seguinte:

### Forma dos Grãos de Pólen

Relação P/E	Denominação da forma
0,50	Peroblato
0,50 - 0,74	Oblato
0,75 - 0,87	Suboblato
0,88 - 0,99	Oblato-esferoidal
1,00	Esférico
1,01 - 1,14	Prolato-esferoidal
1,15 - 1,33	Subprolato
1,34 - 2,00	Prolato
2,00	Perprolato

Relação entre as medidas do diâmetro polar e equatorial dos grãos de pólen e a denominação de sua forma.

Extraído de Salgado-Labouriau (1973), com modificações

Quando observados ao microscópio óptico, muitos grãos de pólen aparecem em duas posições bem definidas: a vista equatorial, onde vemos o equador de frente, e a vista polar, onde vemos o pólo de frente.

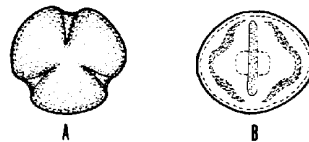


Figura 03. Vista polar (A) e equatorial (B) do grão de pólen.

Podemos fazer uma analogia com um cigarro, sendo o filtro e a extremidade acesa os dois pólos e a porção mediana o equador. O comprimento do cigarro seria a medida P, enquanto a largura seria a medida E. No caso do cigarro P/E é muito maior do que 1, e a forma portanto é do tipo prolato (na verdade perprolato, pois neste caso P tem mais que o dobro do comprimento de E). Olhando o cigarro lateralmente, vemos um contorno retangular, que é a vista equatorial. Segurando o cigarro entre os dedos, como se fossemos levá-lo à boca, vemos a base do filtro. Nesta posição, temos uma vista polar do cigarro, que no caso é circular. A forma do cigarro não é nem retangular nem circular, mas sim cilíndrica (cilindro com base circular). Precisamos fazer este tipo de composição de imagem com o grão de pólen.

A vista polar dos grãos de pólen recebe o nome de âmbito. O âmbito pode apresentar formas variadas, porém 3 são mais comuns: triangular, quadrangular e circular.

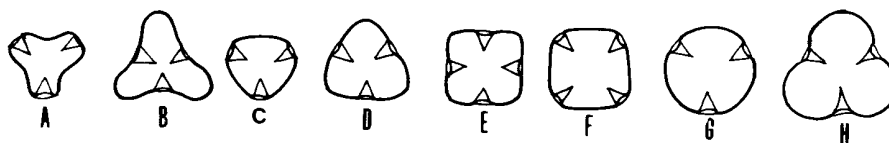


Figura 04. Vistas polares (âmbitos) de grãos de pólen.

Dependendo ainda de como as aberturas (ver a seguir) aparecem em vista polar ou âmbito, os grãos podem ser classificados nos seguintes tipos principais:

- plano aperturado - com abertura em “lados” retos (o contorno do âmbito) - D, E, G
- ângulo aperturado - com aberturas nos ângulos - A, C, F
- fossaperturado - com aberturas em depressões - B, H

#### Aberturas

Muitos grãos de pólen apresentam “aberturas” na parede. Na verdade, a abertura pode ser uma região mais estreita, da mesma espessura ou ainda mais grossa do que a área circunjacente da parede polínica. Portanto, não correspondem necessariamente a “buracos”, mas sim a regiões que funcionam como aberturas, na medida em que formam um ponto de ruptura quando o grão de pólen aumenta de volume (isto acontece quando o grão de pólen cai sobre a superfície do órgão feminino da flor; assim o tubo polínico pode se projetar para fora, alcançando e fertilizando o óvulo).

As aberturas variam quanto ao número, forma, posição e estrutura, dependendo da espécie vegetal. Por isso, são importantíssimas na identificação dos grãos de pólen das diferentes espécies vegetais.

Quanto ao número, existem desde grãos de pólen sem nenhuma abertura até grãos com dezenas de aberturas. A nomenclatura usada é a seguinte:

Quanto à forma das aberturas, existem dois tipos principais: alongadas e arredondadas. Essas aberturas ainda se diferenciam quanto à sua posição nos grãos de pólen, recebendo por isso nomes diferentes.

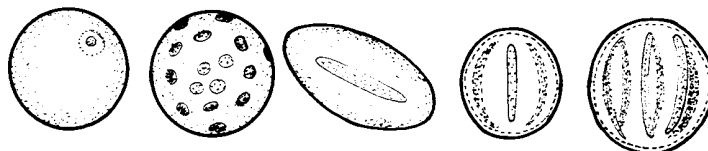


Figura 05. Forma e número de aberturas nos grãos de pólen. Entre parênteses está indicada a denominação dada ao grão de pólen, de acordo com o tipo de abertura: um grão com colpo é dito colpado, e assim por diante.

Tipo de Abertura	Posição no Grão de Pólen		
	equador	pólo	todo o grão
arredondada	Poros (porado)	Ulco (ulcado)	Forâmen (foraminado)
alongada	Colpo (colpado)	Sulco (sulcado)	Ruga (rugado)

Um exemplo de poro observa-se no grão de pólen de chal-chal (*Allophylus edulis*); um ulco, em milho (*Zea mays*); forâmen, em *Silene*; colpo, em salvia (*Salvia*); e sulco, na palmeira jerivá (*Syagrus*). Não é o aspecto da abertura que varia, necessariamente, mas sim a sua posição.

Todos esses termos técnicos visam facilitar a comunicação entre especialistas, mas evidentemente podem ser simplificados para finalidades práticas, como a análise de rotina de méis. Aqui, todas as aberturas circulares e alongadas serão denominadas de poro e sulco, respectivamente (já que nem sempre a posição da abertura é importante na definição da forma final do grão de pólen).

As aberturas alongadas podem se unir nos pólos, pelas suas extremidades. Quando isso ocorre sem que fique nenhum espaço entre elas, diz-se que o grão é sincolpado (ex. cipó-uva); e quando as extremidades das aberturas se ramificam antes de se unirem, deixando uma área entre elas, diz-se que o grão é parassincolpado (eucalipto. p.ex.). Em vez dos termos sincolpado e parassincolpado podemos ver “sulcos com extremidades unidas” e “sulcos com extremidades ramificadas e unidas”, respectivamente.

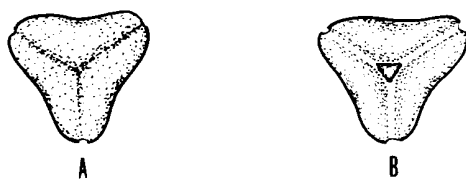


Figura 06. Vistas polares de grãos de pólen, indicando a união das aberturas, do tipo sincolpado (a) e parassincolpado (b)

Quanto à estrutura, as aberturas podem ser simples, como aquelas mostradas na Figura 05, ou compostas (Figura 07).

A área delimitada pelas aberturas simples é exatamente coincidente nas diferentes camadas da parede polínica (ver item a seguir - estrutura e escultura).

Na abertura composta, a área delimitada na camada superficial da parede não se sobrepõe totalmente à área da camada interna. Neste caso, a abertura apresenta-se com formas diferenciadas nas duas camadas. P.ex., alguns grãos têm abertura com a forma alongada na camada superior e circular na camada interna da parede, formando um “cólporo”. Se tomarmos a casca de uma melancia e fizermos uma fenda externa, retirando apenas a porção verde, e em seguida, escavarmos com a faca apenas a região central dessa fenda, extraíndo agora a parte branca, alargando-a de modo a avançar lateralmente sob a casca verde das laterais da fenda superficial, teremos um quadro comparativo de uma abertura composta.

A porção interna de abertura composta recebe o nome de ós (boca; plural = ora). Os ora podem ser circulares ou alongados, no sentido longitudinal e paralelos à abertura externa (ós lolongado), ou no sentido latitudinal e transversais à abertura externa (ós lalongado).

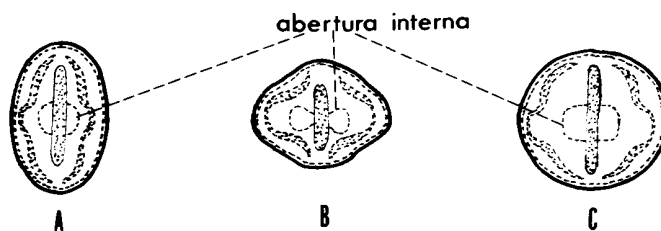


Figura 07. Tipos de aberturas compostas, indicando variações na forma da abertura interna (ós)

As aberturas compostas recebem o nome de acordo com a forma da fenda superficial acrescido da terminação “ora”: p. exemplo, se a abertura externa for um poro teremos um grão porado, se for um colpo, um grão colporado. Para simplificar, será usado apenas o termo “abertura composta”. Um

exemplo: o grão de pólen de eucalipto é triaperturado, colporado, parassincolpado; o que equivale a dizer que possui aberturas compostas que se ramificam e se unem nos pólos.

### Estrutura e escultura da parede

A parede do grão de pólen apresenta duas camadas que podem ser visualizadas, ao microscópio, e diferenciadas quimicamente. A camada externa, formada por esporopolenina (polímeros oxidados e ésteres de carotenóides), é muito resistente e apresenta padrões morfológicos típicos para cada espécie ou grupo de plantas. A camada interna é formada por celulose, menos resistente e com aparência homogênea. A camada externa recebe o nome de exina e a interna de intina (Figura 08). A intina freqüentemente desaparece nos grãos de pólen submetidos a soluções ácidas, como a acetólise. Como esse tratamento químico é amplamente usado pelos palinólogos, muitas vezes a intina não é mencionada nas publicações científicas. Em estudos do pólen no mel, entretanto, é comum a preparação do pólen a fresco, isto é, sem acetólise, de modo que a intina e o conteúdo celular se conservam e também podem ser usados na identificação.

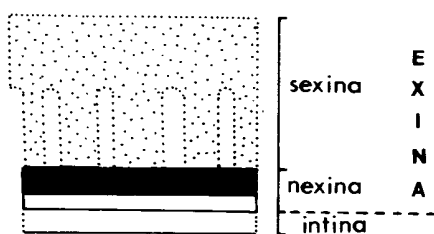


Figura 08. Parede do grão de pólen, mostrando o arranjo espacial das camadas.

A exina contém os principais componentes morfológicos que se prestam à caracterização dos grãos de pólen. Apresenta uma porção externa mais ou menos esculturada, a sexina (do inglês, "sculptured exine") e uma porção interna, relativamente homogênea e sem esculturas, a nexina (do inglês "non-sculptured exine").

Os elementos estruturais da sexina são, basicamente, colunas (pila, singular = pilum), que se projetam a partir da superfície da nexina. Esses elementos apresentam formas variáveis nos diferentes grãos de pólen, mas geralmente, apresentam uma porção cilíndrica (bácula, singular = baculum) com uma expansão na extremidade (capta, singular = caput). Em alguns grãos, as colunas

podem aparecer isoladas na superfície da parede, a semelhança de pregos numa cama de faquir. Em outros, as extremidades superiores dessas colunas se expandem e se fundem, formando um pequeno teto, como uma laje suportada por pilares. Tanto nos grãos com teto como naqueles sem teto podem existir elementos estruturais com outras formas, tais como "verrugas", "espinhos", etc. (Figura 09).

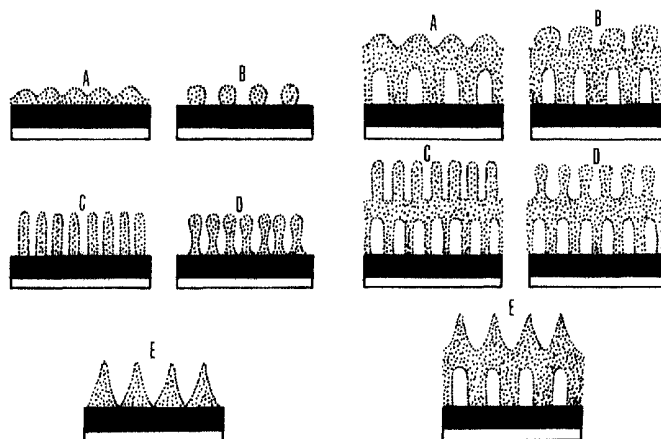


Figura 09. Estrutura de paredes de grãos de pólen com teto (direita) e sem teto (esquerda). A) verrucada; B) gemada; C) pilada; D) clavada; E) espinhosa.

As colunas podem aparecer isoladas, fundidas totalmente, formando tetos contínuos (“lajes”), ou parcialmente, formando tetos descontínuos (Figura 10). No caso de fusão parcial formam-se muros que “cercam” áreas sem teto, com desenhos variados, como retículos (como uma rede de pesca), estrias (como num solo arado), etc. Quando esses muros são muito curvos, diz-se que a superfície da parede é ornada.

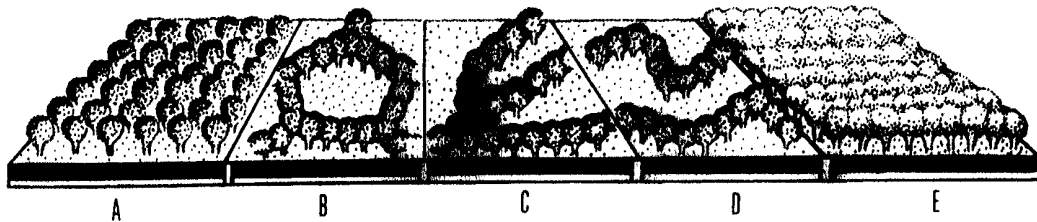


Figura 10. Vista em perspectiva de paredes de grãos de pólen, com variação no arranjo e fusão das colunas (báculas): a - ausência de fusão (superfície pilada); b - d - fusão parcial em retículo (b), em estria (c) e em ornamento (d); e - fusão total (superfície lisa)

Dependendo do número de fileiras de colunas (báculas) que sustentam os muros, estes são classificados em: simplibaculados (1 fileira de colunas ou báculas), duplibaculados (2 fileiras), etc. (Figura 11).

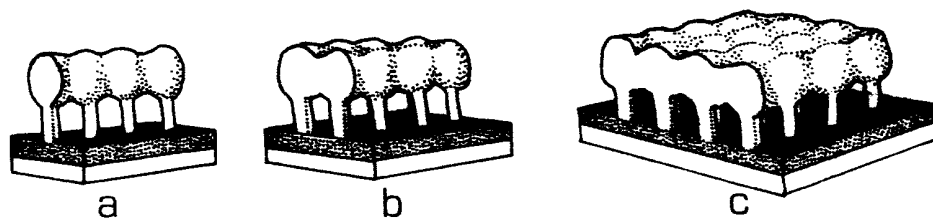


Figura 11. Variação no número de colunas (báculas) sob os muros. a. simplibaculado; b. duplibaculado; multibaculado.

Os espaços sem teto são chamados de lumens nos grãos com retículo. A relação entre a largura dos muros e dos lumens também é uma variável importante para identificar os grãos de pólen. Um muro é considerado largo quando tem espessura igual ao diâmetro do lúmen, e estreito, quando sua espessura é inferior a 1/5 daquele diâmetro. Entre esses extremos as larguras podem ser consideradas medianas.

Nas descrições simplificadas o termo “bácula” será substituído por “coluna”. E, dependendo da ocorrência ou não de fusão das colunas na porção superior, diremos apenas que a parede apresenta ou não teto, descrevendo o aspecto da sua superfície (estrias, retículos, etc.)

#### *Luz e obscuridade*

A análise de LUZ-OBSCURIDADE (LO) foi proposta por Erdtman (1956, ver Erdtman, 1966), um destacado palinólogo, e se baseia na focalização da superfície da parede do grão de pólen em estratos sucessivos, ao microscópio óptico. O termo LO se deve ao fato de que, com as mudanças



de foco sobre a parede há alternância na iluminação das estruturas: aquelas no plano do foco aparecem intensamente iluminadas e claras (LUZ), enquanto aquelas situadas abaixo ou acima aparecem ligeiramente escurecidas (OBSCURIDADE).

Imagine-se olhando uma floresta de cima e que seja possível focalizar apenas a superfície mais alta das folhas e a seguir apenas o plano imediatamente abaixo. Na primeira imagem as folhas apareceriam nítidas, cheias de luz, enquanto na segunda apareceriam embaçadas, escurecidas, e os ramos que as sustentam seriam mais nítidos (assumindo que a visão e a luz sejam capazes de atravessar as folhas que estão acima). Isto reflete o que já sabemos sobre a floresta, mas que nem sempre é fácil de perceber na parede de um grão de pólen: as superfícies claras, no primeiro plano, escurecem quando passamos para o segundo plano de focalização visual da imagem, porque a luz deixa de incidir diretamente sobre elas.

Após as sucessivas focalizações em superfície, a organização tridimensional da parede é deduzida pelo observador, com auxílio de uma imagem lateral (corte óptico). A imagem lateral não é obtida com um corte real da parede, mas sim através da focalização do contorno do grão de pólen.

A Figura 12 mostra a imagem em superfície quando o foco incide em duas posições diferentes, indicadas pela seta na estrutura em perfil da parede.

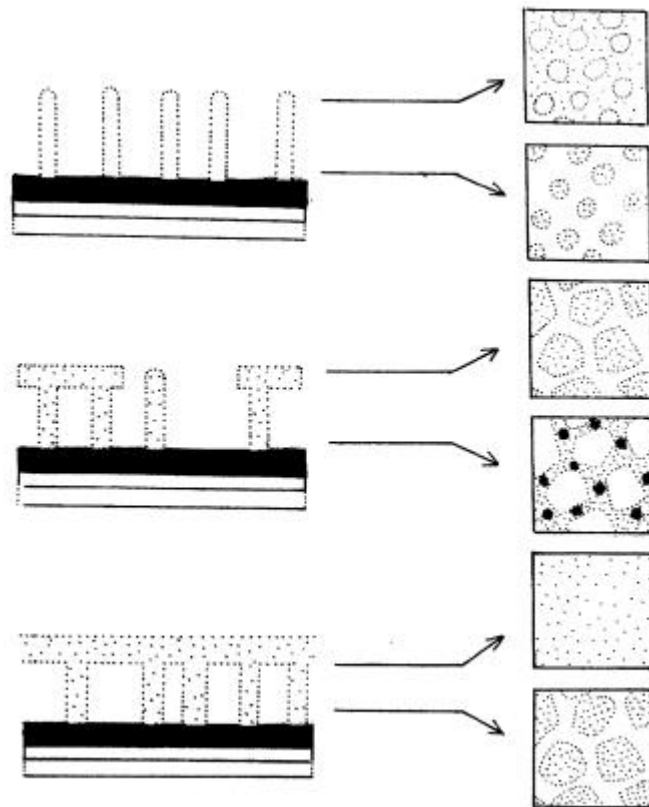


Figura 12. Posicionamento do foco do microscópio em dois planos (indicados pelas setas) de diferentes tipos de paredes de grãos de pólen em corte óptico (à esquerda), mostrando as imagens observadas em superfície (à direita). A) sem teto, superfície pilada (com pilares livres); B) com teto interrompido (barras ligando alguns pilares), superfície reticulada; C) com teto contínuo ("laje" sobre os pilares), superfície lisa.