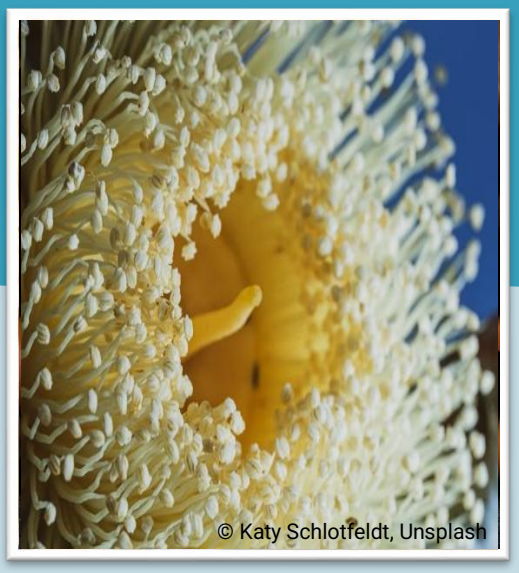
PAVILHÃO DO CONHECIMENTO
CENTRO CIÊNCIA VIVA

Biblioteca de pólen



Protocolo experimental

3.º ciclo do ensino básico e ensino secundário

Botânica | Química

24 horas

A criação de uma biblioteca de pólen (palinoteca) das plantas presentes na escola, permite aprofundar o conhecimento sobre a biologia das espécies existentes no recinto escolar, nomeadamente a diversidade dos seus grãos de pólen. Além disso, possibilita a constituição de uma reserva de referência, facilitando a identificação de características microscópicas que não são visíveis em observações à vista desarmada. Assim, a palinoteca pode tornar-se um recurso científico valioso para enriquecer o conhecimento sobre a história botânica do recinto escolar.

Materiais	• Pincel • Caixas de Petri • Gobelé de 200 ml • Balão volumétrico ou proveta graduada • Balão com tampa • Pipeta (de Pasteur ou micropipeta) ou conta gotas graduado • Marcadores • Hidróxido de potássio (KOH) • Água destilada • Glicerina líquida • Lâminas e lamelas • Microscópio ótico • Bata, luvas de nitrilo e óculos de segurança

ENQUADRAMENTO

As plantas com flor (Angiospérmicas) produzem o pólen nos órgãos reprodutores masculinos, os estames, compostos pela antera e pelo filete. O grão de pólen corresponde a um microesporo capaz de germinar e produzir um gâmeta masculino. O seu interior é constituído por uma célula reprodutora, que é rodeada por uma parede constituída por duas camadas, a intina (interna e composta por celulose) e a exina (externa, e composta por um biopolímero denominado esporopolenina). A exina protege a estrutura e apresenta variabilidade morfológica, de acordo com cada espécie ou grupos próximos de plantas.

A polinização é a transferência de pólen para os órgãos reprodutores femininos, os carpelos, compostos pela estigma, estilete e ovário. No entanto, a polinização pode ser direta, quando ocorre na mesma flor (autopolinização), ou cruzada, quando o grão de pólen é transportado de uma flor para outra flor da mesma espécie. A polinização cruzada necessita da intervenção de agentes polinizadores abióticos (ex. vento e água) ou bióticos (ex. insetos, aves, répteis, pequenos mamíferos e morcegos). Em certas culturas agrícolas com défice de agentes polinizadores, também pode ocorrer a polinização artificial, por intermédio do ser humano.

O estudo dos grãos de pólen e das suas características é muito importante para entender as relações taxonómicas entre plantas. A sua diversidade de formas e ornamentos é enorme, sendo muitas vezes desconhecida pelo público em geral. A técnica de preparação polínica mais utilizada é a acetólise (Erdtman, 1952), que consiste na hidrólise ácida, através de uma mistura de anidrido acético e ácido sulfúrico. No entanto, dada a elevada toxicidade destes reagentes químicos de elevada toxicidade, neste protocolo experimental propõe-se a utilização de um método alternativo à acetólise. Desta forma, também é possível eliminar o conteúdo do grão de pólen e preparar para observação microscópica, facilitando a identificação dos caracteres morfológicos da exina.

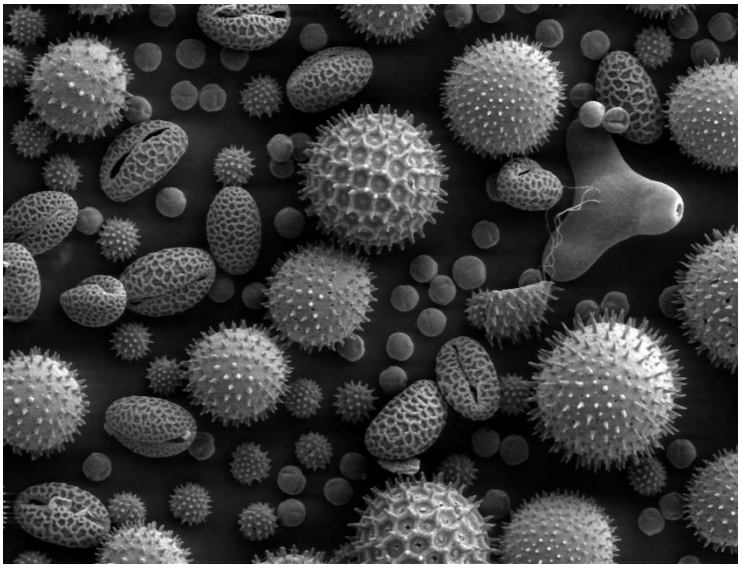


Fig. 1. Exemplos de grãos de pólen (©Dartmouth College Electron Microscope Facility).

QUESTIONAR

- O que é o pólen?
- Porquê estudar o pólen?
- Quais as características do pólen?
- Como criar uma biblioteca de pólen (palinoteca)?

EXPLORAR

1) **Recolha de pólen**
Realizar com os alunos

1.1. Recolher algumas flores de plantas presentes no recinto escolar.

1.2. No laboratório da escola, com o auxílio de um pincel, recolher o pólen para uma caixa de Petri devidamente identificada com o nome da planta amostrada (comum ou científico), ou descrição das suas características.

1.3. No caso de o trabalho laboratorial ser realizado em dias distintos, o material vegetal deverá ser congelado a -20ºC.

2) Preparação da solução de Hidróxido de potássio (KOH) 10%
Realizar apenas pelo professor

2.1. Antes da implementação do protocolo, têm de ser garantidas as seguintes condições de segurança:

a) Apenas o professor pode realizar a preparação da solução;

b) O professor tem de realizar todo o processo no laboratório da escola, especificamente na hotte ou câmara de exaustão;

c) Usar bata, luvas de nitrilo e óculos de segurança.

2.2. Pesar 10 g de hidróxido de potássio (KOH)*.

2.3. Adicionar 90 ml de água destilada a um gobelé de 200 ml.

2.4. Adicionar gradualmente o KOH, tomando precaução com o aquecimento que irá ocorrer no gobelé, devido à ocorrência de uma reação exotérmica. Após a total dissolução completa dos *pellets*, verter cuidadosamente a solução para uma proveta graduada ou balão volumétrico e perfazer o volume.

2.5. Armazenar a solução de KOH 10% a temperatura ambiente num recipiente fechado – balão com tampa ou frasco de vidro – e devidamente identificado.

Atenção! Esta solução tem um pH altamente alcalino. A sua manipulação deverá ser sempre feita com luvas de nitrilo.

3) Preparação das amostras
Realizar apenas pelo professor

3.1. Com recurso a uma pipeta ou conta-gotas graduado, adicionar 3 ml de KOH às caixas de Petri contendo o pólen. Deixar repousar durante 1 hora.

3.2. Retirar algumas gotas da solução anterior com a pipeta ou conta-gotas e realizar uma preparação entre lâmina e lamela para observação ao microscópio.

3.3. Confirmar a presença de grãos de pólen, através da observação ao microscópio, usando as objetivas de 10x ou 40x (Fig. 2).

Nota: É provável que durante a recolha de pólen possa ocorrer a recolha, acidental, de anteras. No entanto, uma vez que estas apresentam um formato e dimensão muito distintos dos grãos de pólen, serão facilmente identificadas.

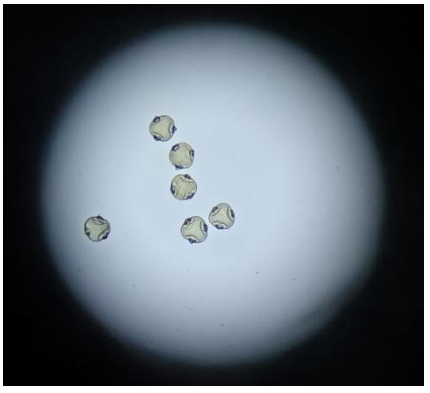


Fig. 2. Pólen de tília após preparação da amostra ao microscópio com ampliação 400x (©Ciência Viva).

4) Criação da coleção de pólen
Realizar apenas pelo professor

4.1. Adicionar a cada lâmina 1 ml de glicerina sobre a lamela, de modo a selar a amostra, e deixar repousar durante, pelo menos, 30 minutos (a 24 horas).

4.2. Identificar a lâmina com a espécie ou código único correspondente.

4.3. Guardar as lâminas num recipiente adequado (exemplo, Fig. 3).

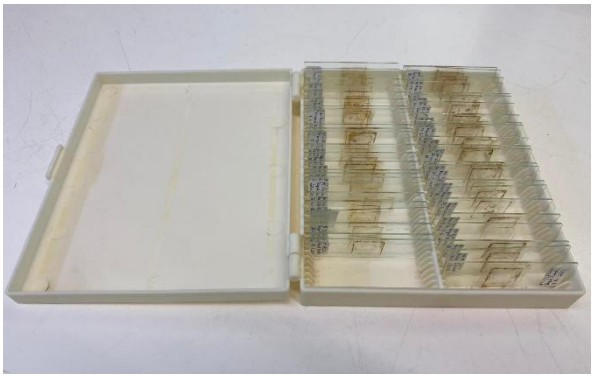


Fig. 3. Exemplo de uma coleção de pólen (©Ciência Viva).

5) Observação ao microscópio
Realizar com os alunos

5.1. Observar as preparações ao microscópio com os alunos.

5.2. Pedir aos alunos para desenharem os grãos de pólen observados no caderno de aluno.

** O hidróxido de potássio é comercializado em pó ou pellets/flocos. Quando o reagente se encontra em pellets poderá ser mais difícil pesar a quantidade exata pretendida (10 g). Nesse caso, sugere-se pesar uma porção de KOH – o mais aproximada possível à massa pretendida – e determinar (através da "regra de três simples") qual o volume de água destilada que será necessário adicionar ao reagente para preparar uma solução de KOH a 10%. Por exemplo: se para 10 g de KOH é necessário adicionar 90 ml de água, no caso de uma determinada quantidade de pellets pesar 11,5 g será necessário adicionar 103,5 ml de água destilada para produzir uma solução de KOH a 10% e assim sucessivamente.*

EXPLICAR

A exina (camada externa da parede do grão de pólen) apresenta características únicas de acordo com cada grupo de plantas, isto é, tem valor taxonómico, permitindo classificar as espécies de plantas. Para além de ajudar na identificação de plantas, o estudo do pólen e criação de bibliotecas de pólen, também permite conhecer a história evolutiva e resolver incertezas taxonómicas. Desta forma, com a criação de uma coleção de preparações de pólen de plantas presentes ao longo do tempo na escola, irá ser possível enriquecer o conhecimento sobre a história botânica do recinto escolar.

Tratando-se de estruturas opacas, o tratamento químico dos grãos de pólen é necessário, de forma a destruir a intina (camada interna do grão) e o seu conteúdo celular, tornando visível os detalhes e ornamentos da exina. Têm sido testados métodos alternativos ou adaptações à acetólise, para o tratamento dos grãos de pólen. O tratamento químico com hidróxido de potássio (KOH), sugerido neste protocolo experimental, constitui um método alternativo económico, seguro, prático e eficiente para a análise microscópica dos mesmos.

SABER MAIS

A palinologia é um ramo da botânica que estuda os grãos de pólen e esporos, atuais ou fósseis. A variedade morfológica dos grãos de pólen promove a interdisciplinaridade da palinologia, dado que apresenta várias aplicações, incluindo a medicina e a identificação do pólen alergénico, paleontologia, e o conhecimento sobre a origem botânica e a qualidade dos produtos apícolas.

O estudo do pólen também é um aliado na investigação criminal (palinologia forense), onde é usado como elemento de prova na resolução de casos judiciais. A análise de pólen recolhido da roupa ou calçado, ou de plantas e solos dos locais de crime, podem associar suspeitos, vítimas e itens a locais de interesse na investigação criminal.

BIBLIOGRAFIA

Erdtman, G. (1960). The acetolysis method – A revised description. Svensk Botanisk Tidskrift, 54:561-564.

Labouriau, M.L.S. (1971). Contribuição a palinologia dos cerrados (Tese Doutoramento). Universidade de São Paulo, São Paulo.

Melhem, T.S. *et al.* (2003). Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo, 16:1-104.

Macedo, V.R.; Mikich, S.B. (2023). Alternativas ao uso da acetólise no tratamento de pólen. In: Thomazini, M.J. *et al.* (Eds.) Anais do XXI Evento de Iniciação Científica da Embrapa Florestas. Pp. 30.