Palinoteca de referência CTBS *Pollen Database*: documentando e disseminando o conhecimento sobre a diversidade polínica

Patrícia Maria Oliveira Pierre[1]; Aline Colle Schimidt[2]; Ana Caroline Basniak Konkol[2]; Rogério Kormann[2]; José Floriano Barêa Pastore[3]

[1]Docente (Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos) e curadora da Palinoteca de referência CTBS *Pollen Database*. [2] Estudantes de graduação em Agronomia (Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos) e estagiários da Palinoteca. [3]Docente (Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos) e curador do herbário CTBS.

Resumo

Palinotecas de referência são coleções de grãos de pólen preservados que auxiliam em estudos de biodiversidade, manejo dos recursos naturais e programas de recuperação ambiental. No Brasil, palinotecas que representem a diversidade de espécies vegetais são escassas. Este trabalho tem por objetivos apresentar as etapas da implantação da palinoteca de referência (CTBS *Pollen Database*), bem como relatar a fase atual na qual a coleção se encontra. O mesmo está vinculado ao projeto de extensão denominado "Criação da Palinoteca de referência CTBS: documentando a diversidade vegetal" que vem sendo executado na UFSC-Campus de Curitibanos. Os dados obtidos e incluídos na coleção serão divulgados à comunidade por meio de publicações em periódicos científicos e em uma página virtual, contribuindo para a disseminação do conhecimento sobre a diversidade polínica, subsidiando estudos em diversas áreas e promovendo ações de pesquisa e extensão por meio do acesso ao seu acervo.

Palavras-chave: Coleção biológica; diversidade polínica; repositório; UFSC.

Abstract

Reference pollen collections are repositories of pollen grains preserved that can be used in biodiversity studies, natural resource management and environmental recovery programs. In Brazil, pollen collections that represent the diversity of plant species are scarce. This work aims to describe the stages of the creation of the reference pollen collection (CTBS *Pollen Database*), as well to report the current phase of this collection. This study is part of to the extension project "Creation of the reference pollen collection CTBS: documenting the plant diversity" that has been carried out in the UFSC-Campus of Curitibanos. The data obtained and included in the collection will be disseminated to the community through publications in scientific journals and on a virtual page, contributing to the dissemination of knowledge about pollen diversity, providing subsidies for studies in the several areas of knowledge and promoting research and extension actions through access to its collection.

Key words: Biological collection, pollen diversity; repository; UFSC.

Introdução

As coleções botânicas, tipicamente definidas, são repositórios sistematizados de espécimes vegetais ou preparações com material biológico (KAMENSKI et al., 2016). Estas coleções são prioritárias seja para o armazenamento de espécimes testemunho ou como fonte material biológico para diversos estudos, dentre eles os anatômicos, florísticos, taxonômicos, biogeográficos e etnobotânicos. Além disso, as coleções são fontes relevantes informações para estudos que acessam biodiversidade (PEIXOTO e MORIM, 2003), como também podem conter referências, nos rótulos de espécimes ou das preparações, que revelam sobre o histórico ambiental, geográfico e informações culturais diversas. As palinotecas, dentro deste contexto, são estruturadas por meio de preparações químicas dos grãos de pólen em lâminas, sendo uma das coleções botânicas fundamentais para estudos ecológicos, evolutivos e biogeográficos, reconhecidas como ramos próprios de estudo, dentro destas áreas de conhecimento, como ecopalinologia, paleoecopalinologia e paleopalinologia. Análises polínicas são também aplicadas ao estudo de abelhas, mel e própolis (melissopalinologia), na área médica, devido à polinoses (reações alérgicas a pólen) (CARVALHO, 2004), para avaliar a qualidade dos combustíveis fósseis por meio da datação de sedimentos ou caracterização de paleoambientes (paleopalinologia).

Dentro desta perspectiva, e considerando a megadiversidade brasileira (33101 espécies de angiospermas! veja: Flora do Brasil 2020), as coleções de pólen no Brasil ainda são incipientes. Um levantamento realizado por Gonçalves-Esteves, Mendonça e Santos (2014) contabilizou 16 palinotecas no Brasil em 2014, sendo três na região Sul e nenhuma para o Estado de Santa Catarina. Desta forma, a criação da palinoteca de referência CTBS *Pollen Database* teve como objetivo preencher a lacuna deste tipo de coleção no Estado, sendo aqui mostradas as etapas implantação da palinoteca CTBS *Pollen Database*. Além disso, discutimos a relevância desta para a pesquisa e a extensão e as perspectivas futuras da coleção.

Metodologia

A coleção polínica do CTBS *Pollen database* foi extraída a partir de anteras oriundas de botões florais coletados em campo (Figura 1A) ou de exsicatas provenientes da coleção do herbário de Curtibanos CTBS (Figura 1B). As amostras foram fixadas em ácido acético P.A., identificados e armazenados a temperatura ambiente até o preparo das lâminas.

Montagem das lâminas e caracterização polínica

Para a análise polínica, os grãos de pólen foram submetidos à técnica de acetólise de acordo com o procedimento descrito por Erdtman (1960). Lâminas permanentes foram montadas em gelatina glicerinada e em seguida, numeradas e depositadas em laminários de madeira (Figura 1C). Imagens digitalizadas foram obtidas por meio do microscópio de luz de epifluorescência Olympus BX60 acoplado com câmera digital Olympus DP73.

Os grãos de pólen foram medidos no software CellSens e caracterizados morfologicamente. Os eixos polar (P) e equatorial (E) foram medidos a partir de 25 grãos de pólen maduros para cada espécie. Valores de P/E foram calculados para cada grão de pólen medido. As terminologias e as classificações do tamanho dos grãos de pólen, número de aberturas, forma e morfologia da superfície polínica na visão equatorial e do número de aberturas, foram adotadas de acordo com as definições de Erdtman (1952), citado por Willard et al. (2004) e de Punt et al. (2007). Medidas da espessura da exina também foram realizadas para 10 grãos de pólen.

Para algumas espécies, análises sob Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina. A metodologia foi baseada de acordo com os procedimentos adotados por Oliveira e Pierre (no prelo).

Desse modo, grãos de pólen provenientes de exsicatas e de material fresco foram fixados em etanol: ácido acético (3:1) e desidratados em álcool etílico (50%, 70% e 100%), sendo mantidas na última série até o preparo das amostras para MEV. Para o preparo das amostras, uma gota de álcool etílico 100% contendo as anteras foi depositada sobre *stubs* (suportes metálicos) contendo uma fita de carbono. Sob microscópio estereoscópio Leica EZ, cada antera foi cuidadosamente seccionada longitudinalmente, com o auxílio de agulhas histológicas, para a liberação dos grãos de pólen. Em seguida, foi adicionada, sobre os grãos de pólen uma gota de HDMS (Hexamethyldisilazane) para auxiliar na desidratação dos mesmos. Os *stubs* contendo as amostras foram colocados em dessecador. Doze horas após a secagem, os suportes foram levados ao *Sputtering* (SCD050) para a metalização dos grãos de pólen com ouro. Imagens digitalizadas foram obtidas no microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390LV.

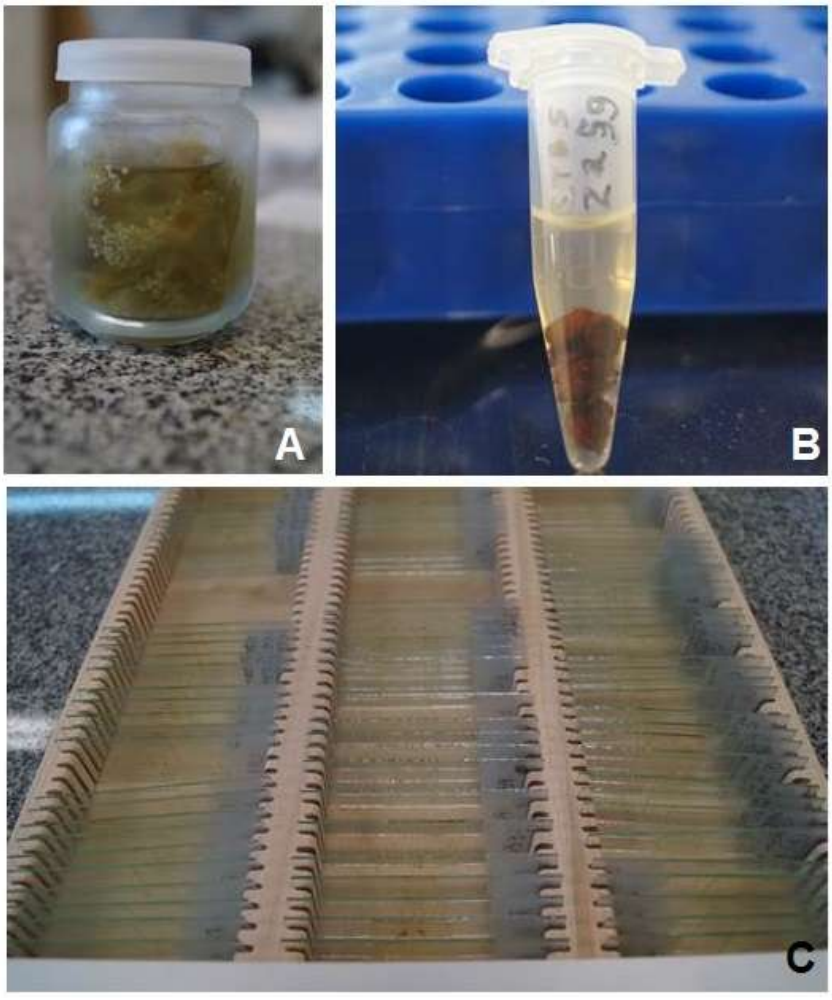


Figura 1- Material polinífero e laminário da coleção CTBS *Pollen Database*. A) Botões florais coletados em campo e fixados. B) Botões florais obtidos a partir de exsicatas acondicionados em fixador. C) Laminário da coleção.

Registro na palinoteca e entrada no banco de dados

A documentação da coleção de referência foi realizada através do registro em um catálogo geral (livro ata) que contém uma ficha de entrada e no sistema de gerenciamento de banco de dados do *Microsoft Office Excel (MSExcel)*, onde foram inseridos o número de registro da exsicata (n.º de tombo), sigla do herbário, sobrenome e número do coletor, nome da família, nome da espécie, local e data de coleta, dados sobre o espécime, localização das lâminas de microscopia na coleção, número de lâminas para cada espécie ou espécime (se há duplicatas). Além disso, foram incluídos no banco de dados as informações palinológicas para cada espécie ou espécime (agrupamento, forma, número de aberturas, tamanho e padrão de ornamentação da exina). Todas as lâminas da coleção foram etiquetadas e acondicionadas em laminários de madeira com gavetas horizontais apropriadas para a coleção.

Disponibilização dos dados

A disponibilização dos dados dos espécimes testemunhos do herbário CTBS (Pastore 2015) que conta atualmente com um acervo de 4.000 exemplares e das lâminas de pólen (CTBS *Pollen Database*) será feita pelo sítio da UFSC na rede mundial de computadores do com diversos campos de buscas para buscas simples ou avançadas. Para o desenvolvimento da página, será utilizada a metodologia descrita por Heidrich et al. 2013). A página, em inglês, será desenvolvida em linguagem PHP (*Hypertext Preprocessor*), que é uma linguagem de script *open source* de uso geral, muito utilizada e especialmente guarnecida para o desenvolvimento de aplicações Web embútivel dentro do HTML (PHP, 2013). Já o Banco de Dados vinculado à página web será desenvolvido com o MYSQL que utiliza SQL (do inglês Structured Query Language), um sistema de gerenciamento de banco de dados (SGBD) dos mais populares utilizados atualmente na internet. A partir da disponibilização virtual das imagens, será acompanhado o número de visualizações por imagens e o número de imagens baixadas.

Resultados

A coleção conta atualmente com 250 lâminas que representam 39 espécies e 52 espécimes de 15 gêneros e 14 famílias botânicas (Tabela 1). Vale a pena ressaltar que para algumas espécies foram analisados indivíduos de populações oriundas de diferentes regiões geográficas.

A coleção já dispõe de uma variedade significativa de pólens com diferentes tratamentos. A figura 2 (A-F) mostra exemplos de imagens, obtidas para o CTBS *Pollen Database*, de grãos de pólen acetolisados observados por meio de microscopia de luz de campo claro (A-D) e observados sob microscopia eletrônica de varredura (E-F).

Tabela 1. Número de famílias, gêneros e espécies incluídas na palinoteca CTBS *Pollen Database*.

Famílias	Gêneros	Número de espécies	Número de espécimes	Número de lâminas
Alliaceae	*Allium* L.	1	1	5
Anacardiaceae	*Schinus* L.	13	17	65
Araucariaceae	*Araucaria* L.	1	1	5
Arecaceae	*Butia* Becc.	1	2	10
Fabaceae	*Adesmia* DC.	7	7	35
Iridaceae	*Gladiolus* L.	1	1	15
Lamiaceae	*Ocimum* L.	1	1	5
Linaceae	*Linum* L.	1	2	10
Myrtaceae	*Eugenia* L.	1	2	10
Pinaceae	*Pinus* L.	1	1	5
Polygalaceae	*Bredemeyera* Willd.	7	7	35
Rosaceae	*Fragaria* L.	1	1	5
Rosaceae	*Malus* Mill.	1	1	5
Solanaceae	*Physalis* L.	1	7	35
Violaceae	*Viola* L.	1	1	5
TOTAL				
14	**15**	**39**	**52**	**250**

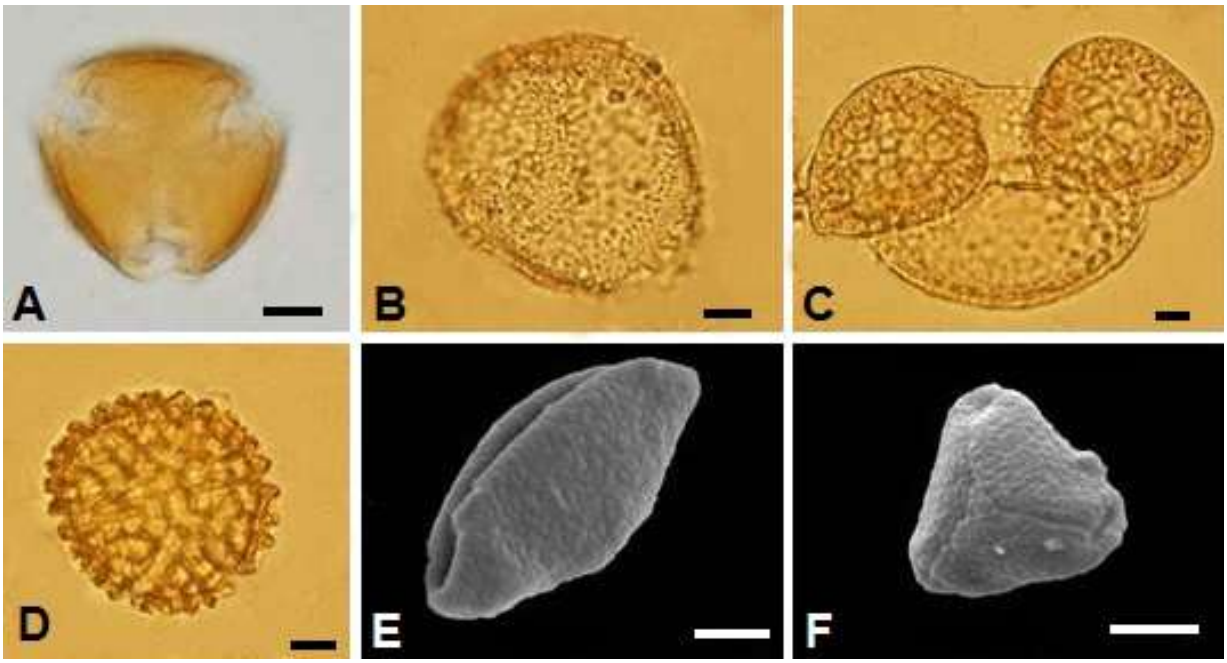


Figura 2- Grãos de pólen de diferentes espécies incluídos na coleção *CTBS Pollen Database* visualizados sob diferentes tipos de microscopia. A) Grão de pólen de *Malus* sp. (Rosaceae). B) Grão de pólen de *Gladiolus* sp. (Iridaceae). C) Grão de pólen de *Pinus* sp. (Pinaceae). D) Grão de pólen de *Ocimum* sp. (Lamiaceae). E) Grão de pólen de *Butia* sp. (Arecaceae). F) Grão de pólen de *Eugenia* sp.(Myrtaceae). Barras=10µm (Figuras A-D); 5 µm (Figuras E e F).

A Tabela 2 mostra as caracterizações do tipo polínico e da ornamentação da superfície polínica das espécies mostradas na Figura 2.

Tabela 2. Tipo polínico e ornamentação da superfície polínica de diferentes espécies incluídas na coleção *CTBS Pollen Database*

Famílias	Espécies	Tipo polínico	Ornamentação da superfície
Rosaceae	*Malus* sp.	Tricolporado	Escabrado
Iridaceae	*Gladiolus* sp.	Monosulcado	Equinado-reticulado
Pinaceae	*Pinus* sp.	Bissacado	Reticulado-verrucado
Lamiaceae	*Ocimum* sp.	Zonocolpado	Reticulado
Arecaceae	*Butia* sp.	Monosulcado	Verrucado
Myrtaceae	*Eugenia* sp.	Tricolporado	Verrucado

Discussão

De acordo com Jarzen e Jarzen (2006), um herbário é uma excelente fonte para obtenção de grãos de pólen para a documentação em palinotecas de referência, principalmente quando o material herborizado foi coletado antes da antese (abertura das flores). O espécime do acervo no qual doou os grãos de pólen para a lâmina da CTBS *Pollen Database* serve, naturalmente, como seu material testemunho. Sendo, desta forma, ligadas as informações sobre a origem geográfica, aspectos morfológicos e classificação taxonômicos, que eventualmente podem ser atualizadas no material testemunho.

Existem poucas iniciativas no sentido de elaboração de palinotecas de referência associadas a herbários. Em 2014, Domingues e Bitar, relataram a implantação de uma palinoteca de referência no herbário '*Mandevilla* sp.' (herbário, não cadastrado atualmente na rede brasileira de herbários) do Centro Universitário Patos de Minas. Segundo os autores, foram citadas confeccionadas lâminas com amostras polínicas de 49 espécies distribuídas em 43 gêneros e 26 famílias.

Na Universidade Federal de Santa Catarina, está disponível uma coleção de referência de pólen da flora apícola criada pelo Laboratório de abelhas nativas da UFSC (Lanufsc). Este catálogo polínico foi elaborado a partir de plantas nativas e exóticas da Ilha de Santa Catarina, com imagens disponíveis dos grãos de pólen associados às imagens das plantas. Entretanto, não é citado um material testemunho depositado em herbário. Desta forma, o palinoteca CTBS é a primeira no estado de Santa Catarina e uma das primeiras no Brasil que está integrada a um herbário.

Além disso, a implantação da CTBS *Pollen Database* constitui de uma excelente ação de extensão, uma vez que ela possibilitará a disponibilização de dados polínicos a um público diversificado, incluindo estudantes, pesquisadores e o público em geral, funcionando como um método de integração entre a pesquisa e extensão. Ainda nesse sentido, a coleção também poderá ser utilizada no Campus de Curitibanos em atividades de ensino nos cursos de graduação em Agronomia e Engenharia Florestal, bem como em atividades voltadas para escolas do município de Curitibanos.

O acervo presente na palinoteca constitui de um verdadeiro banco de informações agregado ao herbário CTBS, promovendo o enriquecimento do conhecimento a respeito da diversidade polínica, possibilitando o treinamento de diferentes acadêmicos dos cursos

oferecidos pela UFSC Campus de Curitibanos que estão exercendo atividades como coleta de material biológico, processamento das amostras polínicas em laboratório, montagem de lâminas, classificação dos tipos polínicos, digitalização das imagens polínicas, catalogação dos dados no banco e desenvolvimento da página virtual. Tais ações promovem o interesse crescente pela pesquisa e extensão, além do desenvolvimento de ações de educação ambiental.

Referências

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

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

DOMINGUES, H.A.; BITAR, N.A.B. Implantação de uma palinoteca no herbário *Mandevilla* sp. **Perquirere**, v.11, n2, p.238-253, 2014. Disponível em: http://perquirere.unipam.edu.br/documents/23456/612187/Implanta%C3%A7%C3%A3o+de+uma+palinoteca+no+herb%C3%A1reo+Mandevilla++sp.pdf

ERDTMAN, G. The acetolysis method, a revised description. **Svensk Bot Tidskr**, v.54, p. 561-564, 1960.

GONÇALVES-ESTEVES, V.; MENDONÇA, C.B.F; SANTOS, F.A.R. Coleções Palinológicas Brasileiras. **Botetín de la Asociación Latinoamericana de Paleobotánica y Palinologia**, v.14, p.83-88, 2014. Disponível em: http://www.palino.com.ar/alpp/BoletinesALPP/Bol_de_la_ALPP_v_14.pdf

HEIDRICH, A.; MONTEIRO, M.R.; PAROLIN, M. A construção de uma palinoteca como fonte de dados Proxy para os estudos paleoambientais. *In:* VIII Encontro de produção científica e tecnológica. **Anais…** Campo Mourão, Paraná, 2013. 12p. Disponível em: http://www.fecilcam.br/nupem/anais_viii_epct/PDF/TRABALHOS-COMPLETO/Anais-CET/GEOGRAFIA/aheidrichtrabalhocompleto.pdf

JARZEN, D,M.; JARZEN, S.A. Collecting pollen and spores samples from herbaria. **Palynology**, v.30, n.1, p.111-119, 2006. Disponível em: http://www.bioone.org/doi/abs/10.2113/gspalynol.30.1.111

KAMENSKI, P.A.; SAZONOV, A.E.; FEDYANIN, A.A.; SADOVNICHY, V.A. Biological collections: chasing the ideal. **Acta Nature**, v.8, n.2, p.6-9, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/305491531_Biological_Collections_Chasing_the_Ideal

OLIVEIRA, L.B.P de; PIERRE, P.M.O. Meiotic index and palynology of cherry tree (*Eugenia involucrata* DC- Myrtaceae). **Revista de Ciências Agroveterinárias**. (no prelo).

PASTORE, J.F.B. Herbário de Curitibanos (CTBS). **Unisanta BioScience**, v.4, n.6, p.300-302, 2015. Disponível em: http://periodicos.unisanta.br/index.php/bio/article/view/527/542

PEIXOTO, A.L.; MORIM, M.P. Coleções botânicas: documentação da biodiversidade brasileira. **Ciência & Cultura**, v. 55, n.3, p.21-48, 2003. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252003000300016&lng=pt&nrm=iso

PHP. Disponível em: < http://www.php.net/manual/pt_BR/intro-whatis.php>. Acesso em: 07/Maio/2016.

PUNT, W.; HOEN, P.P.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S. & LE THOMAS, A. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v.143, n.1-2, p.1-81, 2007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034666706001291

WILLARD, D.A.; BERNHARDT, C.E.; WEIMER, L.; COOPER, S.; GAMEZ, D.; JENSEN, J. Atlas of pollen and spores of the Florida everglades. **Palynology**, v. 28, p.125-227, 2004. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01916122.2004.9989597