

MORFOLOGIA VEGETAL: UMA ABORDAGEM PALINOLOGICA DE *HIBISCUS ROSA-SINENSIS L.*

João Marcos Gomes Leite ¹, Jair Cabral Rodrigues Junior ², Felipe Oliveira de Lira ³, Maristela Tavares Gonçalves ⁴, Alessandro Oliveira Silva ⁵

¹acadêmico do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas - IFTO. E-mail: <cleganeisback@gmail.com>

² Acadêmico do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas - IFTO. e-mail: <jaircabral69@gmail.com>

³ Acadêmico do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas - IFTO. e-mail: <felipeoliveira1998.fo@gmail.com>

⁴ Especialista em Metodologia da Educação do Ensino Superior. - IFTO. e-mail: <maristela.tg@ifto.edu.br>

⁵ Mestre em Ciências Ecológicas – IFTO – campus Araguatins. e-mail: <alessandro.silva@ifto.edu.br>

Resumo: A acetólise é um processo químico que foi criado por Erdtman (1960), com o intuito de facilitar os estudos palinológicos através da limpeza minuciosa de grãos de pólen na estrutura que contém o gameta masculino vegetal. Esse método de limpeza submete os grãos de pólen a soluções ácidas para remoção da estrutura interna (intina), deixando apenas a parte externa (exina) facilitando assim a observação das características morfológicas estruturais. Auxiliando na identificação e classificação taxonômica de espécies vegetais, já que essas características permanecem geneticamente estáveis. O objetivo do trabalho foi analisar a estrutura morfológica externa do grão de pólen de *Hibiscus rosa-sinensis L.* após a aplicação do tratamento com acetólise, o que auxilia em estudos no tocante a botânica. A espécie escolhida para ser usada no processo foi a *Hibiscus rosa-sinensis L.* do gênero *Hibiscus* pertencente à família *Malvaceae*, um arbusto lenhoso, com algumas características, tais como, fibroso e ramificado, podendo chegar até 5 m de altura, uma planta tipicamente tropical e símbolo do Havaí, onde apresentou ser uma espécie que se adequa ao processo após ser submetida ao tratamento. Na presente pesquisa foi utilizado o protocolo de acetólise fornecido pela UFMA (Universidade Federal do Maranhão) de São Luís (2017) por apresentar um resultado satisfatório em relação a tratamentos similares de limpeza.

Palavras-chave: hibisco, *Hibiscus rosa-sinensis L.*, acetólise, grãos de pólen, Palinologia

1 INTRODUÇÃO

A palinologia é a área de estudos que analisa e identifica a morfologia dos grãos de pólen e esporos, com ênfase na fisionomia estrutural e escultural da parede dessas estruturas. Uma parte vegetativa microscópica, possui na constituição da parede a substância orgânica mais resistente da natureza – a exina (SANTOS-SEREJO, 2010), podendo resistir a intempéries por milhares a milhões de anos, algo que desperta fascínio em pesquisadores e estudiosos. A exina é resistente também à digestão, tanto de animais quanto de microorganismos decompositores, pode ainda manter sua forma mesmo com a exposição a ataques de substâncias ácidas. Aliando todas essas características, várias vertentes de estudos sobre a exina começaram a surgir para facilitar o entendimento das estruturas vegetativas ao decorrer do tempo.

Em âmbito científico, pode-se observar áreas de estudos como a geopalínologia ou paleopalínologia que estuda os grãos de pólen nos horizontes do solo (camadas), a fim de reconstituir antigas áreas vegetativas. A melissopalínologia, busca compreender o hábito alimentar de abelhas para determinar a importância de espécies vegetais para a produção de mel, o que mantém as futuras gerações de enxames apícolas assim como a copropalinologia que

identifica o pólen nos excrementos, com intenção de explorar a alimentação de animais. Conjuntamente, a palinotaxonomia auxilia na determinação de níveis de parentesco entre grupos de espécies, o que possibilita um estudo mais avançado em outras áreas. Por isso, torna-se visível a grande utilidade do processo de remoção e limpeza de partes do grão, o que propicia de forma eficiente à visualização e o estudo de determinadas espécies vegetais. Logo o objetivo desse trabalho foi analisar a reação do grão do pólen da espécie *Hibiscus rosa-sinensis L.* quando submetido ao processo de acetólise... determinando a funcionalidade e desempenho na remoção da intina, o que possibilita o estudo da identificação dessas estruturas vegetais microscópicas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O Hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis L.*), originário do continente Asiático apresenta ocorrência de 70 gêneros e 750 espécies no Brasil (LORENZI, 2012) possuindo cerca de 5000 mil variedades e 300 espécies dentro do seu gênero (REIS, 2010), também pode ser separada por razões didáticas em dois grandes grupos, onde Lorenzi (2015) afirma que não existem nomes especiais para designá-los.

É considerada uma planta ornamental (LORENZI, 2012), podendo também ser usada como cercas vivas. Reis (2010) relata que seus aspectos paisagísticos indicam preferência por climas quentes, onde requer uma frequência na exposição a raios solares. Assim, pode-se ver a floração desse arbusto nos meses de julho a agosto dependendo da localização geográfica.

Possui algumas características morfológicas similares a outras espécies, sendo algumas dessas características visíveis a olho nu (Figura 1), como sua flor que é bissexuada (hermafrodita) com estames numerosos, uma característica da família Malvaceae. Logo, a flor exhibe tanto a estrutura reprodutiva masculina quanto. Uma característica bastante visível a microscópio óptico é a presença de espinho no grão de pólen, constituída pela exina (REIS, 2010).

Figura 1 – Estruturas visíveis a olho nu de *Hibiscus rosa-sinensis L.*



Fonte: autor, 2018

Os grãos de pólen são estruturas produzidas nas anteras (Figura 2) localizadas no androceu (estrutura reprodutiva masculina) que auxilia no transporte do gameta até o estigma

(estrutura reprodutiva feminina). A composição do grão auxilia na proteção contra a desidratação e viabiliza a absorção de substâncias como a sacarose, o que permite a germinação do tubo polínico (SANTOS-SEREJO ET AL, 2010).

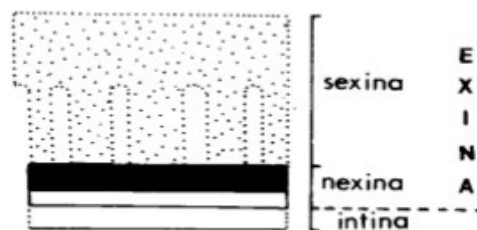
Figura 2 – Detalhe da antera com grãos de pólen de *Hibiscus rosa-sinensis L*



Fonte: autor, 2018

O grão é composto por duas estruturas (Figura 3), sendo a intina (parte interna) formada de celulose, e a exina (parte externa) formada por esporopolenina, onde se subdivide em nexina - camada mais densa, que dará origem a parte superficial, a sexina, responsável pelas características que permitem a identificação da espécie (GALVÃO ET AL, 2009), alguns grãos apresentam peculiaridades como a do hibisco, que é a presença de espinhos feitos da sexina. Outros grãos também irão possuir estruturas semelhantes (RAMALHO, 21-?) que auxiliam na fixação do grão tanto em agentes polinizadores (abelhas, morcegos e outros) quanto na adesão do estigma floral. Já a intina, é menos estudada na palinologia, tendo em vista que se trata de estudo voltado para estrutura, classificação e dispersão dos grãos de pólen (GALVÃO ET AL, 2009), mas por ser bem menos resistente, deve ser retirada com o uso de soluções ácidas.

Figura 3 – Estruturas básicas do grão de pólen



Fonte: RAMALHO, 21-?

Os grãos possuem buracos, que favorecem no desenvolvimento do tubo polínico, estrutura que irá levar o gameta do grão até o ovário (REDE DE CATÁLOGOS POLÍNICOS ONLINE, 2016). Essas aberturas variam quanto ao número, posição, forma e estrutura o que depende da espécie vegetal.

Sendo assim, possível identificar no grão de pólen do Hibisco *Rosa-sinensis* as aberturas (poros) e característica desses poros: quanto ao número de aberturas (Pantoporado), a forma do grão (Esferoidal), ornamentação da exina (Equinada), simetria do pólen (Radial), âmbito do pólen (Circular), e polaridade do pólen, sendo esta apolar (REDE DE CATÁLOGOS POLÍNICOS ONLINE, 2016).

3 METODOLOGIA/MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia *Campus* Araguatins próximo ao povoado Santa Teresa – km 05, a cerca de 5 km de distância de Araguatins (IBGE, 2010). O município de Araguatins situada às margens do rio Araguaia (05°39'04''S e 48° 07'28''W) no estado do Tocantins, possuindo uma área de 2297,3 km².

A localização do *Campus* possui o clima adequado para o desenvolvimento da planta o que possibilitou coletas durante os meses de novembro de 2017 a junho de 2018, totalizando sete meses de coletas do material polínico. A espécie, por ser de fácil identificação, não exigiu uma chave dicotômica para determina-la, apresentando uma incrível semelhança a uma variação de espécies conhecida como Mimo-de-vênus. Sendo essa última, bastante difundida na região por também possuir características morfológicas que permitem fazer da espécie uma planta ornamental, sendo a pigmentação o diferencial entre ambas (TERRA DA GENTE, 2017).

A coleta dos grãos foi feita em diferentes turnos (matutino, vespertino e noturno) no decorrer dos meses, aonde a coleta foi antes e depois da antese floral. Em coletas feitas na parte noturna, o material foi preservado em eppendorf contendo ácido acético glacial puro. Em outras coletas anteriores a acetólise, o material botânico foi extraído ainda na flor para que no laboratório fosse feita uma lavagem com ácido acético glacial puro para retirada dos grãos.

A análise foi feita no laboratório de microscopia do *Campus*, onde foi usado o protocolo de acetólise fornecido pela UFMA de São Luís no Maranhão. Para o processo foi preparado a solução acetolítica, glicerina aquosa 50% e a gelatina glicerinada de Kaiser (BUCHERL, 1962) para imersão dos grãos limpos onde posteriormente foi feito a montagem das lâminas com esse material inoculado.

Em sequência rigorosa, as etapas foram: a) retirada do material polífero e colocando-os em tubos de ensaio com 5 ml de ácido acético glacial puro; b) centrifugação a 2000 rpm por 5 minutos; c) descarte do sobrenadante; d) acréscimos de 5 ml da solução acetolítica (4,5 ml de anidrido acético e 0,5 de ácido sulfúrico); e) o tubo foi direcionado para banho-maria a 100°C por 2 minutos onde foi mantido um bastão de vidro dentro do tubo para que a solução fosse feita a homogeneizando a mistura; f) nova centrifugação por 5 minutos e descarte do sobrenadante;

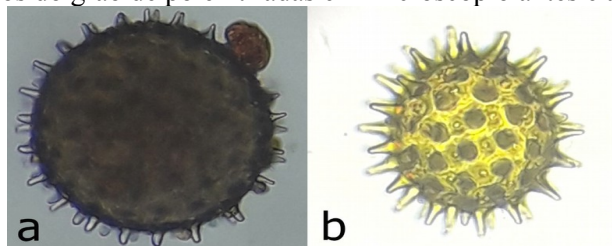
g) adição de água destilada e 2 a 3 gotas de álcool etílico no tubo de ensaio contendo os grãos de pólen; h) centrifugação final por 5 minutos e descarte do sobrenadante; i) adição de solução aquosa de glicerina a 50% com pausa de 30 minutos a 24 horas para encaminhando então o material para preparação das lâminas com intuito de serem permanentes e usadas como material didático.

Para a preparação das lâminas foram feitos cubos de gelatina glicerinada com o tamanho aproximado de um grão de arroz. Em seguida, os cubos de gelatina foram posicionados com o grão de pólen limpo em seu interior, manuseados com alças de platina feitas de agulha de seringa, fixadas em palitos de churrasco. O material já confeccionado sobre lâmina, foi contornado com parafina em formato circular e, sobre esse círculo, fixada a lamínula para a visualização em microscópio óptico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através dos resultados obtidos foi possível realizar uma observação mais acurada dos grãos de pólen com a identificação de estruturas da exina como os espinhos feitos da sexina que caracteriza o grão da espécie e sua forma (Figura 4).

Figura 4 – Fotos do grão de pólen tiradas em microscópio antes e após a Acetólise



- Grão de pólen sem o processo de limpeza com acetólise; b) Detalhe geral do pólen de *Hibiscus rosa-sinensis* L. após o processo de limpeza com acetólise

Fonte: autor, 2018

Foi possível determinar também que é necessária uma coleta minuciosa com intuito de evitar a contaminação por grãos de outras espécies ou estruturas que prejudicam a visualização dos grãos decorrente de polinização biótica ou abiótica.

Outro ponto importante estabelecido foi que a coleta deve ser feita antes da antese floral com o botão ainda fechado, porque evita-se contaminação por agentes polinizadores como as abelhas que levam outros grãos de pólen derivados de outras espécies.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o processo de acetólise, pode-se fazer uma análise minuciosa de estruturas que proporcionam a identificação de espécies já conhecidas e novas, como já mencionado, auxiliando no melhor entendimento da flora da região. Tendo em vista ainda que, a diferença do grão de pólen antes da limpeza acetolítica e posterior à limpeza, apresentam uma diferença notória quando comparados, podendo destacar os detalhes estruturais do grão de pólen, permitindo a identificação da espécie. Assim por possuírem estruturas geneticamente estáveis, os grãos só variam sua forma de acordo com a espécie fazendo da palinologia um estudo de extrema importância tanto em pesquisas quanto em botânica. Outra vertente seria o uso de lâminas permanentes como recurso didático, proporcionando uma melhor compreensão de alunos e pesquisadores.

A confecção de lâminas deixa claro que é possível realizar coleções que possam ser disponibilizadas as escolas públicas da região para estudo e visualização, tornando assim as aulas de Ciências Biológicas mais interessantes e didáticas.

REFERÊNCIAS

ANDREATA, H. P.; TRAVASSOS, O. P. **Glossário de Botânica**. Rio de Janeiro: Ed. Universitária Santa Úrsula, 1994. 134p. Disponível em: <<http://w3.ufsm.br/herb/glossario.pdf>> Acesso em: 16 jul. 2018.

BUCHERL, W. **Técnica microscópica**. 3.ed. São Paulo: Polígono, 1962.

GALVÃO M. N.; PEREIRA, A. C. M.; ESTEVES, V. G.; 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**. Rio de Janeiro. Acta bot. bras. 23(1): 247-258. 2009.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2002. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios: síntese de indicadores 2010. Rio de Janeiro: IBGE. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1998.

LORENZI, H. **Plantas para jardim no Brasil**. 2. Ed. São Paulo, 2015.

LORENZI, H.; SOUSA, V. C. **Botânica Sistemática**. 3. Ed. São Paulo, 2012.

MARTINS, V. F. **Aspectos da reprodução de Angiospermas**. 21-?. Disponível em: <<https://www2.ib.unicamp.br/profs/fsantos/bt682/2013/Aula8/Aula8-Reproducao.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2018.

RAMALHO, M. **Analisando o grão de pólen**. Disponível em: <<http://www.webbee.org.br/pesquisa/palinologia.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2018.

Rede de catálogos polínicos online. Disponível em: < <http://chaves.rcpol.org.br/> >. Acesso em: 17 jul. 2018.

REIS, F. **Hibisco (*Hibiscus syriacus L.*)**. Plantas de chaves. 2010. Disponível em: <<http://plantasdechaves.blogspot.com/2010/09/hibisco-hibiscus-syriacus-l.html>>. Acesso em: 18 jul. 2018.

RUBIRA, T. H. S.; SANTOS, J. F.; VIANA, A. C. **O uso do Hibiscus Sabdariffa como alimento funcional.** Conexão Eletrônica – Três Lagoas, MS – Volume 13 – Número 1 – Ano 2016.

SANTOS-SEREJO, J. A.; SOARES, T. L.; ROSSI, M. L. SOUZA A. S.; COSTA M. A. P. C. **Estudo da morfologia polínica e viabilidade de pólen de bananeira.** 2010. 2Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA.

Terra da gente. **Mimo-de-vênus.** 2017. Disponível em: <http://faunaeflora.terradagente.g1.globo.com/flora/arbustos-tuberculos/NOT_0,0,1223962,Mimo-de-venus.aspx> Acesso em: 23 de jul. 2018.