

PALINOLOGIA

Fundamentos, técnicas e algumas perspectivas.

MARIA LÉA SALGADO LABOURIAU
(Instituto de Botânica, São Paulo)

I — HISTÓRICO

II — O ADVENTO DA PALINOLOGIA

A — Fundamentos da análise de pólen

1. Dispersão pelo vento
2. Deposição em camadas sucessivas
3. Coleta pelo método estratigráfico
4. Identificação dos grãos
5. Levantamento das informações

B — As dificuldades do uso do pólen como index-fóssil; causas de erro

1. Processo de fossilização
2. Quantidade de produção de pólen de cada planta
3. Maior ou menor facilidade de transporte aéreo
4. Convergências morfológicas
5. Método de preparação e montagem

III — Métodos para o estudo palinológico

- A. Acetólise
- B. Outros métodos

IV — Análise de pólen em Arqueologia

V — Conclusões

I — HISTÓRICO

O histórico do estudo do grão de pólen está muito bem feito, longa e detalhadamente no livro de WODEHOUSE publicado em 1935. Baseando-nos no que ele escreveu, fizemos um pequeno resumo para dar uma idéia às pessoas que não estão familiarizadas com o assunto, de como foi lento o seu progresso, até que o incentivo de suas aplicações precipitou, no começo do século XX, uma verdadeira inundação de trabalhos que cada dia mais se avoluma.

A história do pólen começa, pelo que conhecemos até agora, com os assírios que, em complicados rituais religiosos, sacudiam a inflorescência da tamareira masculina sobre a tamareira feminina para fertilizá-la.

As esculturas assírias e os escritos de HERÓDOTO nos mostram que este povo já conhecia serem as tamareiras dióicas. Parece, entretanto, que não só o reconhecimento do sexo nas plantas como o papel do pólen como material fertilizante, foram mais tarde esquecidos, pois foram negados por ARISTÓTELES. Assim chegamos no século XVII sem que nenhum progresso tenha sido feito nesta direção.

O pólen é composto de pequeninos grãos variando entre um centésimo e um décimo de milímetro e, sendo assim tão pequenos, é muito fácil compreender que o estudo dos mesmos só tenha avançado, à medida que progrediam os aparelhos ópticos. As primeiras observações começaram portanto, com o desenvolvimento do microscópio no século XVII.

Os grandes botânicos da época, como GREW, MALPIGHI, CAMERARIUS, deixaram-nos desenhos muitas vezes artísticos, porém imperfeitos e interpretações errôneas baseadas nas idéias da época. Mas foi o comêço.

No século XVIII, apesar de não se conhecer nem o mecanismo, nem o verdadeiro papel do pólen na fertilização, já se fizeram experiências interessantes que mostravam que sem o pólen não haveria desenvolvimento do fruto.

LOGAN (1739), por exemplo, observou que espigas de milho que haviam sido previamente envolvidas em musselina não se desenvolviam. Num lote em que LOGAN havia cortado todos os paniculos, as espigas também não se desenvolveram, com exceção de algumas que ficavam do lado em que soprava o vento com mais freqüência. Conclui daí LOGAN que o vento trazia o pólen de outros milharais. Estava descoberta então, a polinização pelo vento.

MILLER, alguns anos mais tarde, (1751), observava que flôres de tulipa em que êle cortara as anteras eram polinizadas por abelhas.

No comêço do século XIX houve grande progresso nos aparelhos ópticos; já se conseguiam microscópios com o aumento de quinhentas vezes e com melhor iluminação. Isto resultou no avanço dos estudos dêstes pequeninos grãos. A observação mostrou que a forma dos grãos variava de uma planta para outra, mas que se mantinha constante numa mesma espécie.

Os grãos de pólen começavam então a ser usados como um caráter extra na identificação de famílias e gêneros (BAUER, PURKINJE). Começaram a aparecer as primeiras generalizações. SPRENGEL assinalou que a maioria das dicotiledôneas apresentava 3 sulcos nos grãos, ao passo que MALPIGHI já observara, bem antes dêle, a predominância de um único sulco nas monocotiledôneas.

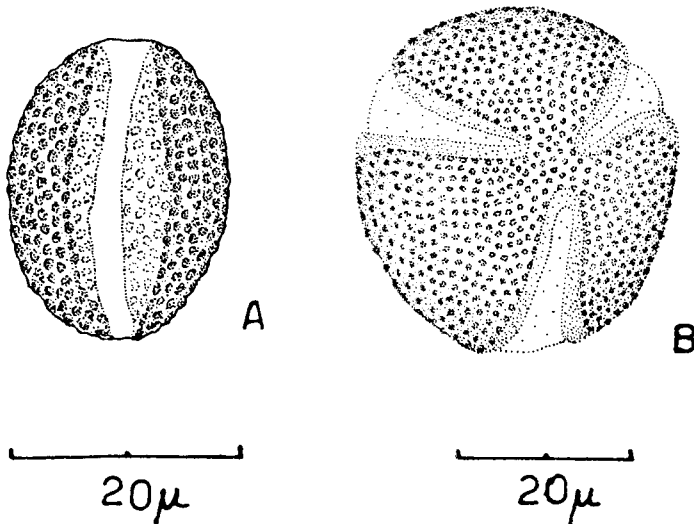


Fig. 1 — A: *Dickia tuberosa* (VELEQ L. B. SMITH (bromeliácea), ilustra o caso predominante de um único sulco nas monocotiledôneas. B: *Zeyera montana* Mart. (bignoniácea), mostrando a disposição dos três sulcos da maioria das dicotiledôneas (segundo SALGADO LABOURIAU e BART.).

PURKINJE interpretou os acidentes morfológicos do pólen, tais como fendas, poros, espinhos, como o resultado do desenvolvimento dos grãos em contacto uns com os outros no saco da antera (e extrapolou um pouco nas suas explicações).

AMICI mostrou a forma geométrica de muitos grãos (por exemplo dodecaedro pentagonal, em *Cichorium intylius*).

Classificações dos grãos começavam a aparecer, mas eram artificiais ou baseadas em interpretações erradas da estrutura dos grãos (tais como a existência de glândulas secretoras na superfície de certos grãos). É claro que como estava tudo por ser feito e nada se conhecia a respeito da fertilização, surgiram as idéias mais estranhas, as interpretações mais complicadas, mas no meio de todo êste aranhol começaram a pingar fatos aqui e acolá, começaram a surgir observações cuidadosas e, pouco a pouco, a verdade foi-se desenvolvendo e se apresentando.

Em 1824 AMICI observou e descreveu a formação do tubo polínico. Esta descoberta chocou-se contra as idéias da época, que davam poderes de movimento aos grânulos do conteúdo do pólen (movimentos êstes que seriam iguais ao do espermatozóide). Mostrou que a penetração no estigma se dava por alongamento do tubo polínico e nunca por deslocamentos por meio de flagelos.

VON MOHL, em 1820, observou na cavidade da antera a formação do pólen em células especiais que, por divisão em quatro células-filhas, ficariam com os seus centros dispostos segundo os vértices de um tetraedro ou de um quadrilátero. Dêste modo, tais células, a princípio mais ou menos ligadas umas às outras, por fim se separavam, ficando sôltas dentro da antera. Mas, por outro lado, VON MOHL interpretou erradamente os retículos do envoltório externo. Depois de tantos estudos de tecidos (tecidos de lenho secundário, de feixes vasculares etc.) achou que também os retículos representariam células e que seriam reservatórios de óleo secretado pelos espinhos (fig. 2). Antes dêle, outros (GUILLEMIN, BRONGNIART) já assinalavam glândulas de secreção ou órgãos de absorção nos lugares em que viam saliências, espículas e outros acidentes morfológicos do envoltório do grão.

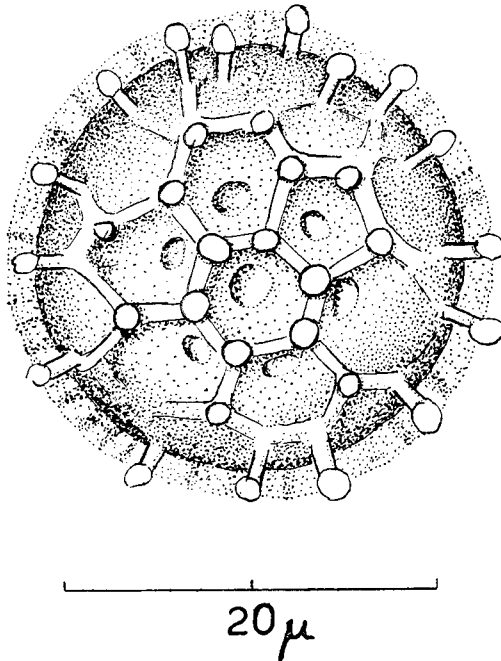


Fig. 2 — *Gomphrena macrocephala* ST. HIL (adaptado de SALGADO LABOURIAU, 1961. VON MOHL) interpretou malhas do tipo acima como sendo paredes de células do "tecido" que envolveria os grãos de pólen. Os bastonetes seriam glândulas secretoras cujos reservatórios estariam nestas "células".

Contemporâneo de VON MOHL foi FRITZSCHE. Mas o seu ponto de vista era inteiramente diferente. Se VON MOHL foi um grande morfologista, FRITZSCHE deixou o seu nome profundamente ligado à Química Orgânica (tratados sôbre ácido úrico, anidrido de potássio, ácido nítrico e nitratos, alcalóides, carboidratos; descobriu, entre outras coisas, que murexides (*murex*: esp. de marisco) eram consti-

tuídas de sais de amônio do ácido purpúrico; fez a decomposição do ácido antranílico em anilina e CO_2 , descobriu os isômeros do nitrofenol, etc). E foi sob o ponto de vista químico que ele encarou o grão de pólen. Com paciência, habilidade técnica e precisão de observação, pôs por terra muita coisa e solidificou outras. Estudando os grânulos contidos no protoplasma do pólen, mostrou que eram constituídos principalmente de gotículas de óleo e de grãos de amilo. O movimento que tinham era o movimento browniano e nada tinha a ver com "animalículos" (espermatozóides), ao contrário, coloriam-se de azul pelo iodo (amilo) sem perder o movimento; ora, o iodo seria tóxico aos espermatozóides ou qualquer forma de vida inferior, imobilizando-os. Mostrou que o envoltório do pólen era, na maior parte das vezes, constituído de duas camadas que denominou *exina* (externa) e *intina* (interna). Esta denominação é usada até hoje. Mostrou que a intina era destruída pelo ácido sulfúrico concentrado. Provou de modo engenhoso ser a exina uma simples membrana e não uma camada celular: depois de destruir a intina e o conteúdo celular por meio de ácido sulfúrico, rolou as exinas entre lâminas de vidro, de modo a isolar pequenos pedaços e mesmo grânulos. Mostrou por esta técnica que a estrutura básica da exina é constituída de uma matriz homogênea na qual ficam embebidos os grânulos, separados ou juntos, em filas livres ou anastomosadas, de vários tamanhos e formas. Isolando espinhos pelo mesmo processo, mostrou serem grânulos muito desenvolvidos e assim destruiu a idéia de que as espículas de exina seriam glândulas secretoras. Fazendo ver que a exina não toma parte na fertilização, FRITZCHE mostrou que, entretanto somente ela nos faz distinguir um pólen do outro. Para muitas de suas experiências usou *Ruellia formosa* e em todos os polens de que examinou a exina, teve o cuidado de destruir a intina e o conteúdo para que a exina ficasse transparente e pudesse ser melhor observada, sem as sombras que os métodos anteriores não eliminavam.

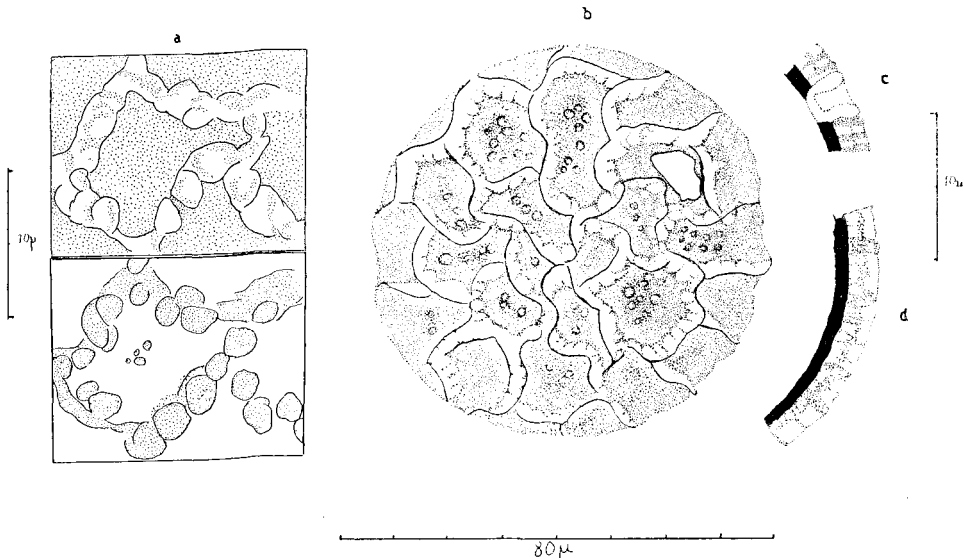


Fig. 3 — *Ruellia geminiflora* H. B. K. (segundo SALGADO LABOURIAU, 1961): o aspecto da exina é semelhante ao da espécie estudada por FRITZCHE. (RIZZINI, 1947). a: LO da sexina; b: desenho do grão, mostrando o poro ($\times 675$); c: corte óptico, mostrando "lumina" e "muri".

Daí por diante a formação e o desenvolvimento dos grãos de pólen foram mais e mais estudados. Observou-se melhor a divisão das células-mães de pólen em tétradas, a formação da intina envolvendo o protoplasma e, por último, sendo envolvida por uma ou 2 camadas externas que constituem a exina (NÄGELI).

VESQUE trouxe à consideração outro ponto de vista, segundo o qual, as diversas esculturas da exina (tais como espículas, retículos, etc), não são devidas ao modo de desenvolvimento do grão, mas obedecem a leis puramente ma-

temáticas e físicas. Entre outros exemplos deu o de *Lactuca*, cujo grão é um poliedro esférico de 21 faces, sendo 9 hexagonais e as outras pentagonais, o que é uma das poucas escolhas de solução matemática para um poliedro de 21 faces.

STRASBURGER estudou cuidadosamente a formação e o desenvolvimento dos grãos de pólen criando a base de nossos conhecimentos atuais. MANGIN (1886-89) mostrou que a intina geralmente consiste de celulose na camada interna e de pectose na camada externa e FISCHER nos fins do século XIX, toma todos êstes dados, ordena-os e dá-lhes uma forma moderna.

Dos estudos morfológicos feitos podemos tirar as seguintes informações e conclusões:

1) O grão de pólen é constituído por uma célula viva que germina formando o tubo polínico, o qual penetra no estigma da flor.

2) Esta célula é envolvida por duas membranas: A *intina* (membrana interna que envolve inteiramente o citoplasma) é constituída de celulose e pectina; a *exina* (membrana externa) é constituída de sporopoleína. Esta substância, de grande resistência a ácidos e à digestão gástrica, não resiste à oxidação. A exina é formada por uma matriz onde os grânulos estão embebidos.

3) A exina não toma parte na fecundação, mas, por suas características morfológicas, constantes na mesma planta, serve para identificação da planta que a originou.

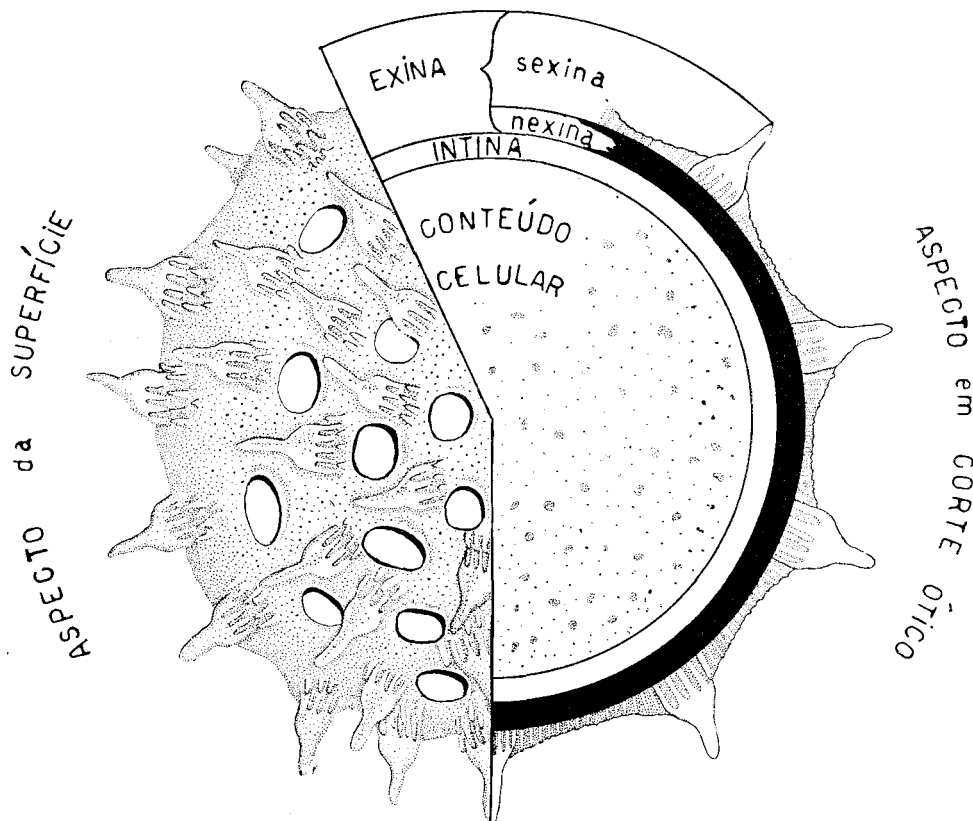


Fig. 4 — Esquema do grão de pólen de *Ipomoea villosa* MEISSNER, mostrando: à esquerda, aspecto da superfície; à direita, conteúdo celular e as duas membranas, intina e exina (esta última com sua subdivisão em sexina e nexina). As espessuras da exina e da intina não estão em escala, tendo sido assim representadas para dar maior destaque (modificado de SALGADO LABOURIAU e BART.).

4) Da perspectiva histórica do desenvolvimento dos estudos dos grãos de pólen podemos inferir a importância da técnica de observação para determinar a qualidade das informações. Somente com a melhora do aparelhamento óptico

e mais particularmente com o uso dos dados químicos é que se pôde chegar a conclusões satisfatórias sôbre os grãos de pólen.

5) Foi pelo trabalhoso método indutivo que reuniu e acumulou daqui e acolá dados muito particulares, que as primeiras informações gerais puderam ser levantadas. Com elas entraremos titubeantes no século XX, para firmarmos pé, estimulados pelas aplicações paleontológicas e médicas, que deram a estes estudos maior interêsse e precisão.

II — O ADVENTO DA PALINOLOGIA

Como já vimos, poucos eram os pesquisadores que se dedicaram ao estudo do pólen e, mesmo assim, por pouco tempo. Se homens como MALPIGHI, VON MOHL e FRITZSCHE tivessem continuado os seus estudos de pólen e não se limitassem, como fizeram, a um único trabalho, a sua capacidade que era inegável, teria feito avançar tremendamente os conhecimentos do assunto. Mas foi somente no século XX com a descoberta da alergia provocada por pólen e com o reconhecimento de o grão de pólen ser um ótimo índex-fóssil que o estudo do pólen teve realmente um bom impulso e de simples apêndice da sistemática passou a uma ciência: a palinologia.

Em 1909, HOLST, o precursor da análise de pólen, escrevia que no estudo da paleobotânica era necessário levar em conta, além dos megafósseis, o estudo dos microfósseis para se ter idéia mais completa da flora de uma época. Efetivamente os restos de plantas são encontrados (predominantemente) nas margens de turfeiras onde estas plantas cresceram, ao passo que o pólen não sofre estas limitações, por ser carregado a distância pelo vento.

Esta observação está um pouco exagerada, pois não é só em turfeiras que se encontram restos fossilíferos, mas a verdade é que ela despertou a atenção para a análise do pólen fóssil.

Em 1916 L. VON POST publicou um trabalho sôbre o pólen fóssil das turfeiras do sul da Suécia. Este trabalho abriu os olhos do mundo a um novo problema e a um novo método. Descobriu-se, então, que por meio de sondagens em turfeiras e em outros tipos de sedimentos, poder-se-iam retirar amostras em diferentes profundidades (método estratigráfico), tratar estas amostras quimicamente (de modo a destruir tudo o que não fôsse o pólen), concentrar os produtos dêsse tratamento (a fim de obter mais exemplares e não perder os raros), preparar lâminas para exame e, depois, identificar e contar os grãos para reconstrução da flora e, por meio dela, do clima daquela região.

O incentivo foi enorme, uma série de trabalhos no assunto começa a surgir. As técnicas de preparação do grão foram melhorando mais e mais. Devido a isto e ao uso de bom aparelhamento óptico foi possível fazerem-se estudos morfológicos pormenorizados, em que a transparência da exina e o uso de lentes de imersão mostraram as intrincadas estruturas e esculturas da membrana do pólen. Mas a análise de pólen do começo do século XX estava restrita a uns poucos estudiosos. Mais tarde, dois livros surgiram que foram de grande importância, não só pelo fato de reunirem o que se conhecia na época, mas, principalmente, por divulgarem os conhecimentos, as aplicações e as técnicas do estudo do grão de pólen.

A alergia ao pólen ou *hay-fever* dos norte-americanos já era conhecida na medicina como causada por pólen disperso na atmosfera, mas, em 1935, a publicação do livro de WODEHOUSE *Pollen Grains* divulgou o assunto e criou um padrão que resultou no melhoramento das técnicas de preparação e de ilustração dos grãos.

Alguns anos mais tarde, ERDTMAN (1943) com seu livro *An Introduction to Pollen Analysis* continua esta divulgação e introduz um grande melhoramento na preparação do grão fresco e de herbário. Ele modifica as técnicas de pre-

paração destes grãos, de forma que apresentem o mesmo aspecto do grão fossilizado.

No fóssil, a intina, que é constituída de celulose, desaparece durante o processo de fossilização e com muito mais razão, desaparece o protoplasma. Fica fossilizada somente a exina, que é composta de uma substância não nitrogenada, a esporo-polenina. Esta substância é um politerpeno com grande número de ligações não saturadas e de extraordinária estabilidade química. Os detalhes da estrutura da esporo-polenina são ainda desconhecidos. Sabe-se, entretanto, que contém grande quantidade de oxigênio (sendo cerca de 50% como agrupamentos OH acetiláveis e pouquíssimo sobre a forma de metoxilas); contém 65% de carbono e 8,5 a 8,7% de hidrogênio.

O método de ERDTMAN consiste em reagir a esporo-polenina com anidrido acético em meio ácido, formando um produto acetilado. Esta acetólise destrói a intina e o conteúdo do grão, fazendo com que a exina do pólen fresco se torne transparente como a do pólen fóssil semelhantemente tratado. Isto permite, então identificar um, pela comparação com o outro. Voltaremos mais adiante a este ponto com mais minúcia.

Se, por um lado, a alergia provocada por pólen forçava o estudo morfológico cuidadoso dos grãos captados na atmosfera (para que se pudesse identificar de que planta provinham), a análise de pólen fóssil, tornava possível levantar dados do quaternário na Europa e nos EE. UU., mostrando as sucessões vegetais e, por meio delas, o aumento ou diminuição de temperatura correspondente aos períodos glaciários e interglaciários, (CARN, 1945). E, por fim, a análise de pólen nos fornecia uma escala cronológica de referência para medir os diferentes acontecimentos da era quaternária.

A jovem ciência da palinologia estava com um bom comêço.

De agora em diante vamos deixar de lado a alergia causada por pólen, por se tratar de um ramo da medicina, que foge à nossa especialidade, mas que não poderíamos ter deixado de citar por causa do estímulo que ela trouxe aos estudos dos grãos de pólen.

Vamos tratar mais particularmente da análise do pólen, com vistas à paleoecologia.

A — Fundamentos da análise do pólen

A análise de pólen fóssil se baseia nos seguintes fundamentos:

1. Dispersão pelo vento
2. Deposição em camadas sucessivas
3. Coleta pelo método stratigráfico
4. Identificação dos grãos
5. Levantamento das informações

1. *Dispersão pelo vento* — Uma planta, ao florescer, produz enorme quantidade de pólen, que é dispersada pelo vento. Se a polinização se dá por meio de insetos (pólen entomófilo), a quantidade de grãos que se dispersa na atmosfera é pequena, mas nunca deixa de existir (GODWIN (1956)). Se a polinização se dá pelo vento (pólen anemófilo), a quantidade de grãos que entra na atmosfera é enorme, como veremos mais tarde.

Para coletar pólen contido na atmosfera, expõem-se ao ar lâminas de vidro para microscópio, cobertas com uma camada de gelatina glicerinada. À medida que o pólen vai caindo, vai ficando prêso nestas lâminas. Foi coletando desta forma que WODEHOUSE observou que os grãos de pólen atmosféricos obedecem a um ciclo que todo ano se repete, numa seqüência perfeita, tendo apenas pequenos desvios nos máximos de cada planta. Segundo êle, por exemplo, a inundação de pólen de carvalho ocorreu em Yonkers (N. Y.) entre 11 e 12 de maio em 1931 e entre 16 e 17 em 1930 e em 1932 (WODEHOUSE 1935).

A dispersão de pólen chega às vezes a proporções fantásticas. Nuvens de pólen tocadas pelo vento, muitas vezes são confundidas com fumaça (CRANWELL, in CAIN 1944). CAIN (1944) observou o solo e as coleções de água ficam cobertas de uma camada amarela durante a floração de *Betula*, *Alnus* e *Pinus*.

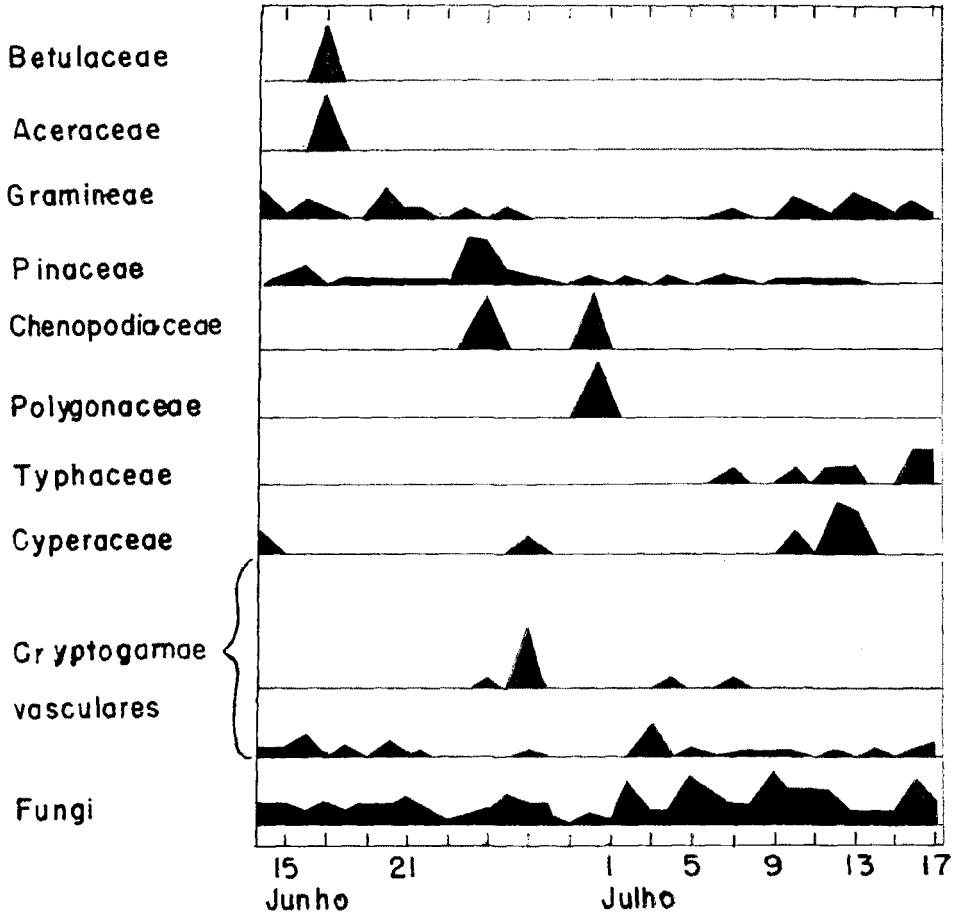


Fig. 5 — Gráfico esquematizado da chuva de pólen diária caída no lago Itasca, Minn., USA, entre 15 de junho e 17 de julho. Cada pico representa a porcentagem de grãos daquele tipo em cinco semanas. Este tipo de representação não permite comparações quantitativas entre grupos, mas dá uma idéia geral da variação de tipos de grãos encontrados (adaptado de ROWLEY, 1955).

O pólen pode ir a grandes distâncias, como observou GODWIN (in CAIN, 1944), coletando pólen no mar à distância de 30 a 300 quilômetros da terra; ERDTMAN (1943) coletou pólen de espécies americanas no oceano Atlântico a 700 quilômetros de Newfoundland.

O pólen é carregado pelas correntes aéreas verticais (ERDTMAN 1943) e lá fica por dias, semanas, meses, até que cai novamente na terra.

DIAKOWSKA (in CAIN, 1944) estudou a velocidade de queda do pólen e mostrou que, além do tamanho, outros fatores devem ser responsáveis pela maior ou menor velocidade de precipitação. Mas neste assunto, se bem que se tenham muitas observações preliminares, foram feitos poucos estudos aprofundados; trata-se de uma lacuna de informação a ser preenchida.

2 — Deposição do pólen em camadas sucessivas

A medida que o pólen vai caindo na terra, encontra lugares em que, por um motivo ou por outro, as condições de oxidação são muito baixas, tais como: turfeiras, lagos e baías tranquilas, depressões, etc. Nestes locais o pólen é pre-

servado e vai-se depositando em camadas. Ano após ano uma nova camada cobre a anterior e os depósitos vão se sucedendo, estratificando, acumulando por milênios.

Estes "arquivos" como os chama ERDTMAN, podem ser identificados e estudados dando-nos, em linhas gerais, uma reconstrução das migrações e sucessões vegetais bem como as condições climáticas com uma boa aproximação. Formam camadas sucessivas, com o pólen tanto mais antigo quanto mais profundo é o horizonte em que ocorre.

3 — Coleta do pólen pelo método estratigráfico

Pelo método estratigráfico, retiramos amostras sucessivas de um sedimento. Para coletar estas amostras, usa-se uma sonda. A fim de dar uma idéia melhor do método, vou descrever uma coleta de fundo de lago feita pelo Prof. POTZGER no Canadá. (WILSON, 1952).

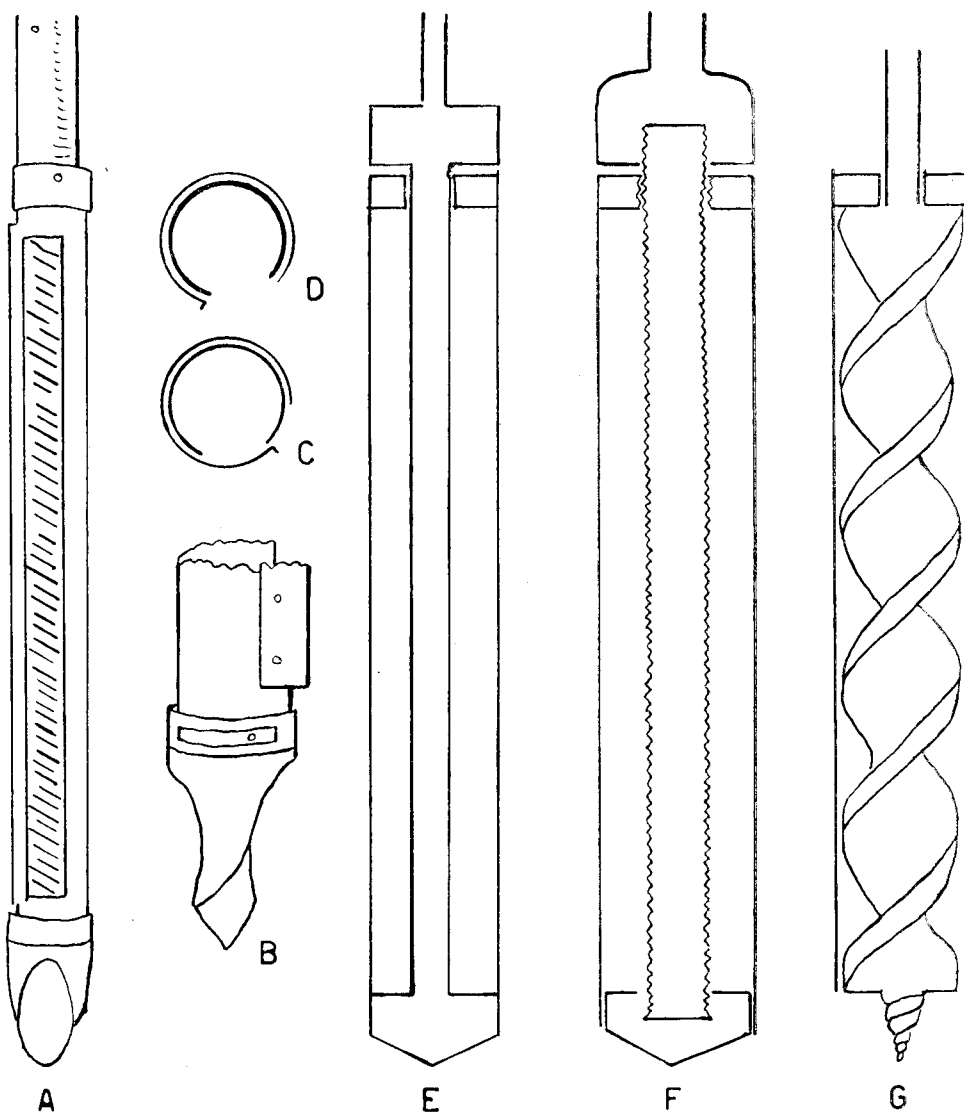


Fig. 6 — Diferentes tipos de sonda para coleta de pólen em sedimentos, A, B, C e D — Sonda de HILLER; C — coletor fechado; D — coletor aberto; E, F. e G, respectivamente, sondas de: DACHONOWSKY, REISSINGER e DOUGLAS (adaptado de ERDTMAN, 1943 e FAEGRI e IVERSEN, 1950)

Ele colhia material do "lac aux Atocas" em Mont Tremblant. O lago tem 100 jardas (90 metros) de largura e 20 pés (6 metros) de profundidade. Este lago é em forma de taça, como muitos outros que foram deixados pelas geleiras ao regressarem para o norte depois da última glaciação. Numa barca, o grupo comandado pelo Prof. POTZGER atingiu o meio do lago e lá, por meio de um sondador eletrônico de profundidade, foi calculado o lugar onde a vasa era mais profunda. Ali deveriam estar os depósitos mais velhos.

Começaram então os trabalhos de sondagem por meio de uma sonda Hiller para turfas. Primeiro tirou-se uma amostra do fundo do lago, (superfície da vasa). A segunda amostra foi tirada a 6 polegadas abaixo do fundo do lago. Daí por diante foram sendo tiradas amostras de pé em pé (33 centímetros).

A sonda Hiller é manobrada da seguinte maneira: Coloca-se a sonda no lugar em que se deseja perfurar. Vai-se girando a sonda sempre para a direita para aprofundá-la na turfa ou vasa. Um dispositivo especial, como se vê no esquema, conserva o tubo coletor fechado. Ao chegar à profundidade desejada, dá-se um giro rápido para a esquerda e a sonda se abre, coletando o material naquela profundidade. Outro giro para a direita e ela se fecha. Retira-se então a sonda girando para a direita para que se conserve fechada.

O material é colocado em tubo de vidro onde se anota a profundidade. Lavam-se as mãos para evitar a contaminação nas diferentes amostras, põe-se nova extensão na sonda e lá vai ela novamente para o fundo. No trabalho de POTZGER, acima referido, a sonda foi até a profundidade de 20 pés (6 metros) onde a turfa negra cedia o lugar à areia.

O material assim coletado é então levado para o laboratório para identificação e contagem dos grãos.

4 — A identificação dos grãos

A identificação dos grãos de pólen retirados de depósitos se faz por meio de comparação com os grãos de plantas atuais.

Por meio da acetólise preparam-se lâminas permanentes de pólen fresco ou de herbários. Em 1951 ERDTMAN (1952) já tinha uma coleção de referência de dez mil lâminas.

Para identificação dos grãos, compara-se o atual com o fóssil, lançando mão, para isto, de caracteres morfológicos como fendas, poros, sulcos, juntamente com tamanho, forma, número, escultura e estrutura, pois sabemos que estas características estruturais da exina são constantes na mesma planta ou pelo menos tão constantes quanto qualquer outra característica morfológica de espécies.

É importante, entretanto, que se compreenda que não é possível a identificação de pólen, sem que disponha de coleções de lâminas de espécies conhecidas (palinoteca) e de catálogos contendo desenhos, descrições e medidas. Para o hemisfério norte isto já foi feito e novos dados estão sempre sendo acrescentados. Entretanto, no Brasil, não podemos usar estes catálogos pois nossa flora é bem diferente e pacientemente teremos que levantar nossos próprios dados. É frequente o botânico ser procurado por alguém que quer a identificação de pólen seja de mel ou de sedimentos onde microfósseis foram encontrados. Com os pouquíssimos dados de que dispomos não é possível identificar, às vezes, nem a família. A probabilidade de êxito numa tal identificação seria comparável à de se conseguir identificar corretamente uma pessoa por suas impressões digitais dentre uma população que não está fichada por dactiloscopia.

Com o estudo cada vez mais bem feito já se pode distinguir mais e mais plantas apenas pelo pólen. Há dificuldades enormes em alguns casos, como entre as ciperáceas e gramíneas, em que muitas vezes não se pode dizer se o grão pertence a uma ou outra família (GODWIN 1956). Mas, na maioria dos casos,

pode-se chegar bem até o gênero. Entretanto, está havendo um grande esforço no sentido de se distinguir também espécies dentro de um gênero.

Em alguns casos já se faz a distinção pela diferença estatística do tamanho. CRANWELL (1939) distingue espécies de *Nothofagus* desta forma bem como coníferas de Nova Zelândia, (CRANWELL, 1940). Também HANSEN (1941 a) usa este método para espécies de coníferas fósseis em Washington (USA). FIRBAS (in GODWIN, 1944) apresenta um método de distinguir os cereais cultivados das outras gramíneas, por meio do tamanho e de caracteres associados.

As vezes, o que é mais raro, encontram-se diferenças morfológicas claras entre espécies do mesmo gênero. Por exemplo HANSEN (1941 b) descobriu que *Tsuga mertensiana* tem visículas aeríferas, ao passo que *T. heterophylla* não tem (CAIN, 1944). Nós observamos, no decurso de um trabalho de pólen de plantas do cerrado, que o pólen de *Gomphrena officinalis* apresenta bastonetes diferentes dos de *G. macrocephala* (M. SALGADO LABOURIAU, 1961).

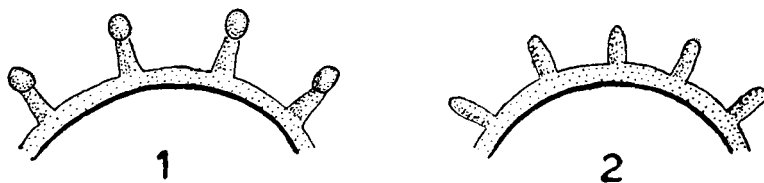


Fig. 7 — Distinção entre duas espécies de *Gomphrena*. *Gomphrena officinalis* MART. (1) apresenta bastonetes com um alargamento na ponta (pilum); ao passo que *G. macrocephala* St. HIL. (2) tem bastonetes simples (baculum) (Esquema adaptado de SALGADO LABOURIAU, 1961). Para aspecto do grão inteiro veja fig. 2.

Além disto, já se separam muitas espécies, como *Salix herbacea* e, entre outras, *Salix* e *Betula nana*, entre outras, *Betula* (GODWIN, 1956).

ERDTMAN (1952-p. 123) dá uma chave para distinção de espécies de compostas de gênero *Dendroseris*.

A distinção da espécie ajudará muito ao paleoecologista na solução de uma série de problemas em que há no mesmo gênero, espécies características de diferentes grupos de vegetação. Para exemplificar, aqui no Brasil, temos no gênero *Stryphnodendron* espécies de caatinga, do cerrado e da mata amazônica. No gênero *Caesalpinia*, temos espécies na caatinga, mata amazônica e mata costeira. *Anacardium nanum* e *A. humile* são do cerrado ao passo que *Anacardium occidentale* ocorre no litoral brasileiro. Existem *Caryocar* no cerrado e na hiléia.

Acreditamos e esperamos que, no futuro, técnicas mais apuradas, sejam morfológicas ou químicas, nos permitirão mais e mais distinções de espécies.

5 — O levantamento das informações palinológicas

Ao serem estudados os grãos de pólen de uma determinada sondagem, outros fatores, além da identificação, são levados em conta. Para diferentes profundidades determina-se também a porcentagem de aparecimento de cada tipo de grão. Faz-se então um gráfico para cada espécie encontrada no depósito, mostrando, deste modo, as variações de ocorrência daquela espécie em sucessivas profundidades, ou, em outras palavras, em diferentes épocas. Tem-se, então, o espectro do pólen de uma determinada planta naquele local.

Os espectros de pólen são, então, postos um ao lado do outro, dando-nos uma idéia da relação de variação das diferentes plantas encontradas naquele depósito. Esta reunião dos espectros forma o perfil de pólen do local estudado.

A simples inspeção, o perfil já mostra as sucessões da flora e as predominâncias que ocorreram naquele local. No exemplo citado, podemos observar que *Picea* aparece em primeiro lugar, predominando sobre *Abies* e *Pinus*. À medida que subimos no depósito, ela deixa de predominar, cedendo o lugar de

destaque para *Pinus*. A seguir começam a surgir novas árvores: *Betula*, *Quercus*, *Fagus* e *Carya*, que pouco a pouco vão aumentando em porcentagem sobre as outras.



Fig. 8 — Perfil de pólen de um turfeira em Savannah Lake (Ohio, USA) (adaptado de POTTER, 1947).

Agora que se tem o perfil de pólen de um local, vão-se analisando locais próximos até que se consiga o levantamento de uma grande área.

Começa, então, a comparação dos perfis dos diferentes depósitos.

Duas conclusões podemos tirar deste exame:

1) Determinando-se os pontos de semelhança entre estes perfis podemos estabelecer os horizontes de mesma idade e teremos uma escala cronológica de referência. Uma vez estabelecida esta escala, o exame pela análise de pólen de alguns mm² de turfa, de vasa ou de qualquer sedimento daquele local terá a sua idade determinada.

2) Por outro lado teremos as mudanças e sucessões não só de um local para outro, como também de um período geológico para outro.

Na Europa, onde se tem feito a análise de pólen exaustiva do quaternário, já se conhecem bem estas sucessões. Depois do último período glaciário, por exemplo, à medida que as geleiras regrediam para o norte, territórios antes cobertos por tundras ou sem vegetação, foram-se lentamente cobrindo de florestas de *Pinus* e *Betula*, que, para viverem, necessitam temperatura mais alta do que as que as geleiras poderiam oferecer. A análise de pólen nos mostra que a *Pinus* e *Betula* sucederam *Corylus* (avelã), *Quercus*, (carvalho), *Ulmus* (olmo), *Tilia* e um pouco depois, *Alnus*.

Estas plantas atingiram um ótimo estendendo-se não só muito mais para o norte, como também em muito maiores altitudes do que aquelas em que hoje podemos encontrá-las. Este último grupo de plantas é conhecido, por comparação com as de mesmas espécies que temos vivas, por necessitarem de temperatura mais alta que *Pinus* e *Betula*. Portanto o território por elas ocupado deveria ter tido temperatura mais amena do que quando nêles predominavam as duas primeiras.

Daí podemos concluir com os paleoecologistas, e apoiados pelos geologistas, que após a última glaciação, na Europa, o clima se foi aquecendo até atingir

um máximo e, depois, começou novamente a esfriar. As árvores estão novamente migrando para o sul e o hemisfério norte está, lenta, mas inexoravelmente, voltando a uma nova idade do gelo.

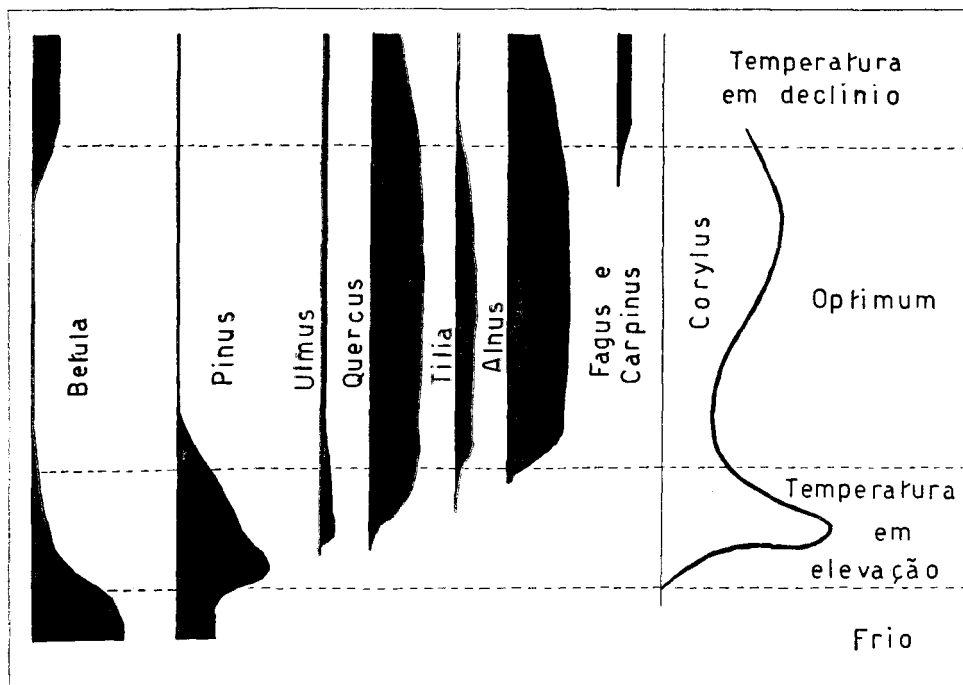


Fig. 9 — Diagrama baseado em análise de pólen de sedimentos, mostrando a sucessão de flora arbórea pós-glaciária na Europa e sua correlação com o clima (adaptado de GODWIN, 1956).

Para nós aqui no Brasil, em que as glaciações foram na era primária, não temos, como no hemisfério norte, a sucessão de floras dos períodos glaciários e interglaciários. Mas é interessante notar que os períodos glaciais da Europa corresponderam na África a períodos de chuvas torrenciais, de grandes rios, enormes lagos e florestas de grande extensão. Os períodos interglaciários corresponderam a períodos secos em que muitas partes da África se tornaram áridas, desertos surgiram, lagos e rios secaram.

B — As dificuldades do uso do pólen como index-fóssil

Vista, assim de modo geral, como fizemos, parece que a análise do pólen é uma coisa simples e de conclusão imediata. Entretanto, quando posta em prática, a análise de pólen é bem mais complicada. Uma sondagem mal feita, um defeito na amostragem, na preparação ou na identificação dos grãos, pode nos levar a conclusões errôneas. O uso do pólen como index-fóssil deve ser feito com o mesmo cuidado que requer qualquer outro index-fóssil.

As causas do erro no uso do pólen em paleoecologia são:

1 — Processo de fossilização

A maioria dos grãos de pólen fossilizam-se muito bem, entretanto existem grãos cuja exina é muito frágil tais como os de *Juniperus*, *Taxus* e *Populus* e que portanto se quebram facilmente no processo de fossilização.

Os polens delicados de *Cannaceae*, *Juncaceae*, *Lauraceae*, *Marantaceae*, *Musaceae*, e algumas espécies de *Zingiberaceae* (ERDTMAN 1952), se enrugam e

encolhem quando são "acetolizados". Nas *Annonaceae* observei (1961) que só se pode fazer acetólise de pólen fresco.

Outros tipos existem, como por exemplo o pólen de *Larix* (CAIN, 1944) que por peculiaridades de sua estrutura química não se preservam facilmente (sua fossilização depende das condições químicas da turfeira).

Para estes polens o estudo do fóssil é muito difícil e a porcentagem encontrada não representa a realidade.

2 — A quantidade de produção de pólen de cada planta

Umhas plantas produzem mais pólen do que outras. CAIN (1944) observou que numa tempestade de poeira em 1934, pólen de carvalho caiu em Chicago numa proporção de 3,4 toneladas por milha quadrada. Observações semelhantes foram feitas por GODWIN, ERDTMAN e outros como vimos quando tratamos da dispersão pelo vento.

A produção de pólen varia de planta para planta e portanto num espectro de pólen haverá plantas cujas frequências estarão superestimadas, enquanto outras estarão subestimadas.

3 — Maior ou menor facilidade de transporte aéreo

Como já vimos quando falamos em transporte aéreo, os polens anemófilos predominam sobre os entomófilos no ar, e portanto, nos depósitos.

Também já vimos que certos polens são transportados a maiores distâncias do que outros.

Felizmente a quantidade de "chuva de pólen" diminui à medida que aumenta a distância, assim, ao examinarmos um depósito, ele representará a flora local se nós desprezarmos o pólen encontrado em pequena porcentagem.

É claro que, se pelo estudo das camadas sucessivas de um depósito, tivermos uma determinada espécie predominando numa certa altura e depois a sua porcentagem fôr caindo nas outras camadas, o caso não será o mesmo do anterior, mostrando antes um fenômeno local de sucessão, isto é, indicando a predominância e o declínio daquela planta.

4 — Convergências morfológicas

Existem casos de espécies bem distintas que não se podem distinguir pela morfologia do grão de pólen. *Viola* (violeta) e *Quercus* (carvalho) são o exemplo clássico. Há ainda outros como *Salix-Fraxinus*, que, no caso de dúvida, são ambos incluídos como "pólen salicóide".

MEINKE, em seu *Atlas e chave de determinação para análise de pólen* (1927), chama a atenção para isto mostrando muitos casos de convergência.

Quando há convergências morfológicas, somente o estudo minucioso de cada caso, nos pode dizer eventualmente, se os grãos em consideração pertencem ou não a uma determinada espécie.

5 — Método de preparação e montagem

As dimensões dos grãos, como já vimos anteriormente, são de grande importância no seu reconhecimento. Grãos morfológicamente iguais podem ser separados em espécies diferentes por este critério.

Segundo GODWIN (1956) "numerosos trabalhos já publicados mostram que as exinas, fósseis e frescas, não somente respondem diferentemente às diferentes técnicas de preparação, como sua resposta varia com o tipo de incorporação e preservação".

VAN CAMPO (1958 p. 755) mostra as dimensões e relações entre eixo polar e eixo equatorial em três espécies do gen. *Linaria* (P1.43-P1.44-P1.45) (*Scrophulariaceae*), dimensões estas que foram tomadas em grãos preparados com três técnicas diferentes. Em cada técnica, o resultado é diferente. PRAGLOWSKY (1959), entre outros, mostra o inchamento de grãos em montagens diferentes de lâminas permanentes. Também FAEGRI e DEUSE (1960) dão tabelas de variação de tamanho de pólen de *Betula* em diferentes tratamentos: KOH apenas, fervendo 160 minutos ou 10 horas; KOH seguido de acetólise; acetólise sôzinha com 1 minuto ou com 4 minutos de fervura.

Tabela de Faegri & Deuse (1960) — Tratamento em *Betula*

TRATAMENTO	Tamanho médio	Variança
KOH 160 minutos.....	14,1	0,9
KOH 10 horas.....	14,2	0,8
KOH 10 horas, acet.....	16,9	1,1
Acetól. 1 minuto.....	13,0	1,0
Acetól. 4 minutos.....	15,4	0,4

Podemos assim concluir que não é possível identificar pólen por medidas tomadas com diferentes métodos de preparação ou montagem. É preciso estandarizar o método para que o tamanho do grão e dos acidentes morfológicos da exina, que são tão importantes no reconhecimento do mesmo, possam ser levados em consideração.

Como método de acetólise, usado para os grãos fósseis, também apresenta ótimo resultado para a maioria dos grãos frescos ou de herbário, foi êle aceito em tôda parte e tornou-se o método padrão.

6 — Conclusões.

Depois de têmos analisado tôdas estas causas de erro no uso do pólen como index-fóssil, podemos ver fâcilmente que é preciso cuidado na interpretação dos dados. Isto, é claro, acontece com qualquer index-fóssil, seja êle pólen ou não. As conclusões que tiramos são que:

1.º Citando GODWIN (1956) "Um certo tipo de pólen dado, só pode ser usado como prova de que a planta existia naquele local quando, por outras evidências gerais, reconhecer-se que êle (o pólen) forma um componente substancial e geralmente consistente de uma chuva de pólen local".

2.º A segunda conclusão é uma generalização da primeira. A correlação entre o espectro de pólen achado e a vegetação que êle realmente representa não é direta, nem perfeita. Algumas plantas estariam sub-representadas no espectro, ao passo que outras estariam por demais representadas com relação à realidade. Para diminuir as causas de erro, deve-se fazer um estudo de correlação entre vegetação e pólen achado. Para isto, analisa-se o pólen achado na superfície de um depósito, correlacionando-o com a vegetação real que circunda o depósito. Esta correlação será então aplicada aos espectros de pólen fóssil de composição florística semelhante.

3.º À medida que descemos na escala do tempo, menos precisas se vão tornando as reconstituições da flora passada. Se, por meio de correlações com a flora atual, podemos reconstituir a flora quaternária fóssil, a reconstituição da flora terciária já se torna mais difícil e daí para baixo não é mais possível êste método, pois não há associações de flora atual comparáveis.

4.º Na determinação do clima de uma época passada pela análise de pólen deve-se ser cauteloso, pelas mesmas razões acima descritas.

5.º) A análise de pólen é um ótimo método que nos oferece uma série de dados, mas não é o único. Ele nos dará ótimas conclusões se ligado a outros estudos.

III — MÉTODOS PARA O ESTUDO PALINOLÓGICO

A — Acetólise (ERDTMAN, 1943; idem, 1952)

a. *Acetólise de material fresco.*

1 — Retire o material (tecas, estames, botões, etc) e coloque em tubos de vidro com 1 cc de ácido acético glacial. Pode assim ficar por dias, meses.

2 — Centrifugue em baixa rotação.

3 — Tire o sobrenadante.

4 — Acrescente mais ou menos 1 cc da mistura de acetólise.

Mistura de acetólise:

9 partes de anidrido acético

1 parte de ácido sulfúrico

(Para preparar a mistura, junte gôta a gôta o ácido sulfúrico ao anidrido acético e só prepare a quantidade de mistura necessária para o dia).

5 — Passe para um tubo de centrífugo e complete o volume em cada tubo com essa mistura, até 5 cc.

6 — Ponha um bastonete de vidro em cada tubo.

7 — Ponha em banho-maria, começando com a temperatura do banho entre 70°C e 80°C e aqueça o mais rápido possível até começar a ferver (banho na capela, se possível, a fim de evitar aspiração nasal dos vapores).

8 — Quando começar a ferver, parar imediatamente o aquecimento e agitar o fluido.

9 — Centrifugue por meio minuto — 3 000 rotações/min.

10 — Tire o sobrenadante para um recipiente à parte (jogue a mistura na terra, nunca no esgôto de pia).

11 — Acrescente água destilada até a marca de 10 cc.

12 — Agite o tubo até formar espuma.

13 — Remova a espuma acrescentado 1 a 2 gotas de álcool ou acetona.

14 — Centrifugue e decante.

15 — Acrescente uma parte de água e uma parte de glicerina. Deixe ficar por 10 minutos, ou até o dia seguinte.

16 — Centrifugue e decante.

17 — Ponha os tubos de boca para baixo, sobre papel de filtro limpo. Comece a montagem.

b. *Material de herbário*

O material de herbário é passado numa tela e o pó é levado para dentro do tubo centrífugo com a mistura de acetólise. (A tela que usamos é de latão n.º 50 que cortamos em quadrados de 4 cm de lado e aplicamos diretamente na boca do tubo centrífugo para tamisar o material sêco. Para cada tubo usamos um quadrado de tela diferente e, ao acabar, passamos as telas até ao rubro na chama de bico de BUNSEN a fim de poder usá-las em novas acetólises; a chama destrói inteiramente os grãos remanescentes.

Complete o volume da mistura de acetólise nos tubos para 5 cc e proceda daí por diante como nos grãos de material fresco (item 4).

c. *Montagem da lâmina*

Montam-se os grãos em gelatina glicerizada, preparada segundo KISSER (*Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie*, vol. 51, 1935).

50 gr. gelatina	7 gr.
175 ml. água destilada	25 ml.
150 ml. glicerina (82%)	21,4 ml.
7 gr. fenol	1 gr.

A gelatina é dissolvida a quente na água. Acrescente em seguida fenol e glicerina. Filtre em lã de vidro comprimida num funil quente.

1 — Um pedaço minúsculo de gelatina glicerinada é prêso a um estilete e toca-se ou mergulha-se delicadamente no sedimento da centrifugação.

2 — A gelatina contendo o sedimento que reteve é então posta numa lâmina.

3 — Aquece-se ligeiramente e examina-se no microscópio \pm (100x) para ver se o pólen precisa ser diafanizado.

4 — É importante que o fragmento de gelatina glicerinada colocado na ponta do bastão seja muito pequeno, porque, depois de aplicada a lamínula, a gelatina glicerinada deve ficar a 5 mm de margem da lamínula, formando uma mancha circular no centro da lamínula.

5 — Lutar com parafina (método de J. MÜLLER). Fundir a parafina em cadinho. Por meio de um estilete de vidro, transferir uma gôta de parafina fundida para a lâmina. A parafina se espalha rapidamente entre lâmina e lamínula. Durante a lutagem a lâmina deve ser mantida ligeiramente quente. Virar as lâminas de lamínula para baixo para que os grãos se depositem na lamínula enquanto a gelatina glicerinada e a parafina endurecem.

Daí por diante conservam-se as lâminas em posição horizontal, com a lamínula para cima.

d. *Diafanização dos grãos*

No caso de ficarem os grãos muito escuros, depois de feita a acetólise, diafaniza-se com cloro nascente. Usa-se um têrço do sedimento total.

1 — Ao sedimento + glicerina + água, acrescente mais ou menos 5 cc de ácido acético glacial.

2 — Ponha 1 (ou 2) gotas de solução saturada de clorato de sódio, agite.

3 — Uma (ou duas) gotas de ácido clorídrico, agite. Aparece imediatamente cloro nascente. O material fica descorado em menos de meio minuto.

4 — Centrifugue e decante.

5 — Lave em água destilada, depois em glicerina + água, monte e lute com parafina.

e. *Coloração*

Notando que nos grãos corados, fica mais fácil a observação das fendas, dos poros e da escultura da exina, modificamos o método de FAEGRI e IVERSEN (1950) procedendo da seguinte forma:

1 — Ferver em banho-maria por 15 segundos o sedimento + solução 5% KOH + 3 a 4 gotas de safranina diluída em água.

2 — Centrifugue, lave e monte.

Nota — grãos que foram diafanizados ou coroados não devem ser usados para medidas mas somente para ajudar na observação da estrutura e escultura fina da membrana, pois o processo de diafanização altera as medidas, segundo já foi verificado.

B — *Outros métodos*

Existe uma enorme variedade de métodos de montagem e preparação de grãos e existe igual número de variações introduzidas nestes métodos. Como nenhum deles elimina totalmente o conteúdo celular, com exceção da acetólise,

a modificação e a diversidade dos métodos mostra bem a tentativa de melhorar a observação dos detalhes. *E é precisamente neste ponto que todos eles falham.*

Entretanto como vimos quando consideramos o processo de fossilização, os grãos, cuja exina é muito delicada, não se fossilizam e também são difíceis de "acetolizar". ERDTMAN (1952) propõe para estes casos que após a acetólise, os grãos sejam fervidos em KOH (5%) ou tratados diretamente pelo método de FISCHER ou de WODEHOUSE. Com *Anonaceae*, observamos que o grão de herbário não dá bom resultado para acetolizar, mas o grão fresco pode ser perfeitamente acetolizado.

Como em todos estes casos os grãos não se fossilizam, outro método pode ser usado para a preparação de tais grãos, exclusivamente para estudos taxonômicos.

Método de WODEHOUSE (1950) — p.106-108 "Uma pequena quantidade de pólen... é colocada no centro de uma lâmina de vidro e uma gota de álcool é acrescentada e deixada evaporar parcialmente. Uma segunda, terceira e mesmo quarta gota pode ser acrescentada se necessário fôr. O álcool se espalha à medida que evapora e deixa as substâncias oleosas e resinosas do pólen depositadas como um anel em volta do espécime. O anel oleoso é tirado com algodão molhado em álcool, e antes do espécime ter tido tempo de secar completamente, uma gota quente de gelatina glicerina + verde metila é acrescentada, e o pólen é agitado com uma agulha e distribuído uniformemente. Durante este processo a lâmina é mantida quente passando-a por uma pequena chama... Se não se puder obter pólen naturalmente sóto pela flor, pode-se obter material satisfatório de espécime de herbário, uma vez que tenham sido secados rápida e inteiramente. Geralmente basta sacudir as flôres secas sobre uma lâmina ou esmagar algumas anteras. Se não puder remover pólen desta maneira, algumas anteras ou, com compostas, algumas flósculas podem ser removidas do espécime e colocadas numa lâmina. Estas são em seguida molhadas em álcool, seguida de uma gota de água e aquecida até ferver. O pólen pode então ser triado, as anteras e resíduos removidos, deixando o pólen na água. A água é então absorvida com papel de filtro e a gelatina glicerina é acrescentada como antes... Quando tratado como acima, o verde metila cora somente a exina deixando a intina e conteúdo celular sem cor. Se se deseja mostrar um contraste entre exina e conteúdo celular o pólen pode ser corado primeiro com uma solução fraca de eosina na lâmina.

RIZZINI (1947) e J. C. GOMES JR. (1955) apresentam uma modificação ao método, montando os grãos em bálsamo-do-canadá. Entretanto não vemos motivo para isto, uma vez que a montagem em gelatina glicerina é permanente e a montagem em bálsamo poderia acarretar diferenças nas medições. Seria preferível seguir a grande maioria dos autores que usa gelatina-glicerina a fim de poder comparar os resultados.

Além de verde, metila, outros corantes podem ser usados, pois este, com o tempo, desaparece: solução alcoólica (FISCHER, *in* ERDTMAN, 1943) ou aquosa (WODEHOUSE, 1935) de fucsina, safranina, azul de metileno, verde iodo, violeta de genciana, etc.

Outra variação é acrescentar o corante diretamente à gelatina glicerina.

Outro método que ainda é muito usado por palinologistas e que foi o método com o qual VON POST há mais de 40 anos preparou as suas lâminas de referência é o método de potassa cáustica. Flôres de herbário são fervidas em 10% de KOH por algumas horas e depois montadas em glicerina gelatinada. Este método tem tido muitas modificações mas em todas elas o grão não fica transparente e a estrutura fina da exina não pode ser bem observada.

VI — A ANÁLISE DE PÓLEN EM ARQUEOLOGIA

Os estudos de pólen fóssil começaram com os sedimentos na Europa que foram formados durante os períodos interglaciários e no pós-glaciário. E foi assim que IVERSEN encontrou uma camada de carvão, entre os sedimentos de

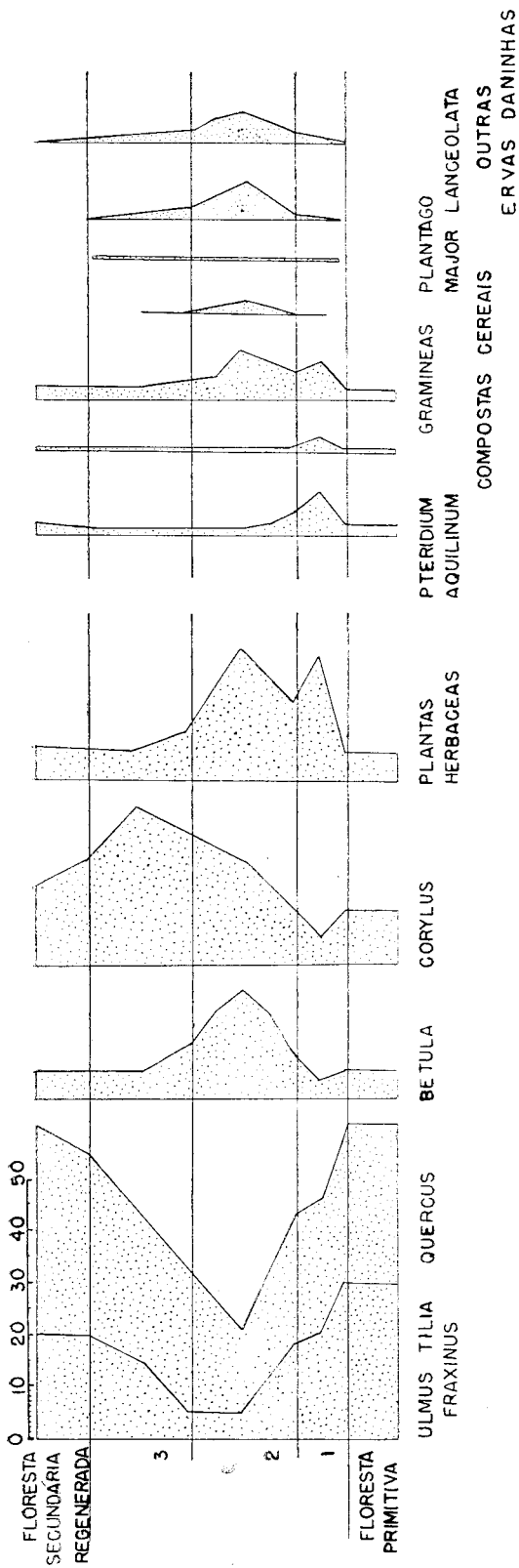


Fig. 10 — “Diagrama de pólen mostrando o efeito de derrubada de floresta na Dinamarca entre cerca de 2500 AC e cerca de 2300 AC. O diagrama é baseado em muitas amostras de pólen tiradas em sondagens de turfeiras. A largura de cada área pontilhada representa a proporção de pólen de uma espécie em comparação com todas as outras. A escala de proporções é dada em cima à esquerda ... Durante os três estágios de derrubada (1, 2 e 3) a distribuição de pólen mudou”. (adaptado de IVERSEN, 1956).

um antigo lago em Ordrup Mose, na Dinamarca. Publicou então um trabalho *Land occupation in Denmark's Stone Age*, (1941) em que mostra que este carvão provinha da queima das florestas pelo homem neolítico, “que ocupou a terra e arrasou esta floresta primordial com machado e fogo” (in GODWIN, 1944).

Pela análise de pólen das camadas abaixo do carvão, via-se que a região era coberta por uma floresta de *Quercus*, *Tilia*, *Fraxinus* e *Ulmus*. Logo acima da camada de carvão era marcante a predominância de pólen não-arbóreo. Nesta camada, encontrou-se espécies de cereais cultivados (que foram distinguidas das outras gramíneas pelo método de FIRBAS) os quais, ainda que em pequena quantidade, ocorriam de modo contínuo em toda a camada. Ao lado destas, foram encontradas duas espécies de *Plantago* (*P. major* e *P. lanceolata*) que estão sempre associadas com perturbações de vegetação causadas pelo homem, e *Artemisia*, provavelmente *A. vulgaris*, que até bem pouco tempo era uma erva daninha na Dinamarca. O exame de camadas superiores a esta mostra que, pouco a pouco, a floresta se foi recuperando.

Em diversas turfeiras por ele examinadas, as mesmas perturbações da floresta, com aparecimento de cereais e ervas daninhas, foram encontradas e somente muito mais tarde, na Idade do Ferro, é que começaram as alterações permanentes.

Sabemos perfeitamente que os homens neolíticos se caracterizam por não terem alojamentos permanentes, mudando de um lugar

para outro logo que o local que ocupam não mais ofereça vantagens e que, sejam eles povos pastores ou agricultores, até hoje, queimam as matas para plantar os seus cereais ou simplesmente para deixar um espaço às gramíneas que invadirão o local e fornecerão pastos a seus rebanhos.

Com base nestes fatos e nos dados fornecidos pela análise de pólen, IVERSEN concluiu que as perturbações sofridas pela floresta pós-glaciária em Ordrup Mose e outras partes da Dinamarca, foram causadas pelo homem neolítico. Seguindo-se a este, muitos trabalhos surgiram nesta direção e a análise de pólen tem mostrado inúmeras vezes o fator homem ocasionando mudança na vegetação natural.

Há ainda outro ponto em que a análise de pólen ajuda a antropologia.

Como já vimos anteriormente, uma vez estabelecidos os paralelismos e determinadas as seqüências de aparecimento de plantas em toda uma região, poderemos examinar um pouco de terra que esteja aderida a um objeto; mesmo que seja um torrão de terra do tamanho de um grão de trigo, ele nos fornecerá algumas centenas de grãos de pólen, que nos darão a idade desta terra.

E foi esta descoberta que permitiu o uso da análise de pólen para verificação da idade de objetos dos povos primitivos.

Se um grão de terra grudado a um instrumento pode determinar-lhe a idade, muito mais fácil se torna a tarefa se os objetos em estudo se encontram enterrados em camadas de sedimentos.

Para exemplificar temos o caso de 3 arpões de osso que foram encontrados, 2 nas costas de Yorkshire e o outro nas costas de Norfolk, na Inglaterra. A.L. ARMSTRONG descreveu-os como pertencentes à cultura maglemosense.

Surgiram, entretanto, controvérsias; a maioria dos antropologistas não concordava com a determinação da cultura. GODWIN foi, então, convidado por ARMSTRONG a estudar os sedimentos onde estes arpões foram encontrados.

Como já havia sido feita a análise de pólen dos locais da Dinamarca e Estônia, onde foram encontrados os artefactos genuinamente maglemosenses, GODWIN comparou-os com os resultados estatísticos dos locais onde foram encontrados os 3 arpões. Os espectros de pólen eram praticamente idênticos, daí a conclusão de que as florestas destes três locais tiveram desenvolvimento sincronizado e portanto as culturas destes locais devem ter sido contemporâneas. A análise de pólen apoiou fortemente a idéia de que os 3 arpões da Inglaterra pertencem à cultura maglemosense.

V — CONCLUSÃO

Pelo que vimos até agora podemos observar o uso variadíssimo da análise de pólen.

Para o botânico sistemata, o pólen representa um caráter extra na identificação e ajuda na elucidação de problemas, como por exemplo, o da origem das angiospermas.

Para o geologista é um índice-fóssil por meio do qual se podem traçar horizontes de mesma idade e ter escalas cronológicas de referência.

Para o paleoecologista esta análise fornece um dos dados fundamentais para o levantamento da vegetação e do clima de uma época passada.

Para o arqueologista, ajuda na elucidação dos problemas dos povos que em tempos idos habitavam a terra e muitas vezes modificaram a sua natureza transformando florestas majestosas em pradarias ou desertos.

Para a medicina, para a higiene, para a farmacologia, é um meio de combater um mal. A análise de pólen é um magnífico instrumento para a elucidação de uma série de problemas. Mas precisa ser bem usada para que seja tão amplamente aplicada.

Há alguns anos, os caracteres que se usavam para distinguir um dado pólen eram bem poucos. Bastava fazer um desenho esquemático do mesmo,

dar o número de acidentes como fendas, poros, etc., dizer se a exina era granulada, reticulada ou lisa, e pronto, estava feita a descrição. Devido às vantagens do uso do pólen em tantas ciências, as descrições foram aumentando e se avolumando. Mais e mais tipos iam surgindo. Era necessário precisar mais, para distinguir espécies que à primeira vista pareciam muito semelhantes. As técnicas se foram aprimorando, os desenhos, que antes eram puramente artísticos ou simples esquemas, passaram a ser mais técnicos e mais pormenorizados. Tornou-se necessário retirar o conteúdo do grão e destruir a intina para se ver mais facilmente a estrutura e as intrincadas esculturas da membrana externa. A técnica de acetólise foi então universalmente aceita.

Hoje, para caracterizar um pólen é preciso levantar os seguintes dados: (ERDTMAN 1952, 1959; VAN CAMPO 1959).

1 — Tamanho e forma do grão.

2 — Número, posição e tamanho de acidentes morfológicos como fendas, poros e espinhos.

3 — Tipo de escultura da exina com detalhe em L.O.

4 — Corte óptico de exina mostrando as duas camadas, sexina e nexina, com suas subdivisões.

Uma vez de posse desses dados, a descrição do grão pode ser usada para diferentes fins, porque a identificação do pólen se torna mais precisa.

As técnicas de preparação e montagem de pólen evoluíram do comêço do século até agora e com isto podemos, hoje em dia, tirar muito mais proveito destes pequeninos grãos do que tiravam os que com êles trabalharam no comêço do século XX.

Mas esta evolução das técnicas não parou. A necessidade de distinção de espécies, dentro do mesmo gênero, cada dia se torna mais premente. É possível que num futuro bem próximo, técnicas mais apuradas, sejam morfológicas ou, mais provavelmente, químicas, venham a abrir novas frentes para a palinologia.

No Brasil não dispomos ainda de dados suficientes para um reconhecimento das espécies por seus grãos de pólen. * Não podemos *a priori* resolver quais as plantas a serem escolhidas para index-fóssil, baseando-nos na experiência européia e americana. Para êles, bastam as árvores que são poucas e que por coincidência são tôdas anemófilas (*Betula*, *Pinus*, *Fraxinus*, *Ulmus*, *Tilia*, *Alnus*, *Quercus*, *Fagus*, *Carpinus* e *Abies*). A variedade e a diversidade de nossos grupos ecológicos exigem o uso do método indutivo, que, ainda que mais demorado, é, neste caso, o único seguro.

BIBLIOGRAFIA

- CLAUSEN, K. E., 1960. "A survey of variation in pollen size within individual plants and catkins of three taxa of *Betula*". *Pollen et Spores*, 2(2): 298-304, 2 tab.
- BRAGA, R., 1959. "Notas Palinológicas: Gymnospermae do Paraná". *Bol. Inst. de Hist. Nat.*, 1 (Botânica 1): 1-11, 3 fotos, 5 figs.
- 1960a. "Notas Palinológicas II: Schizaeaceae no Paraná". *Bol. Inst. de Hist. Nat.*, (Botânica 3), s/numeração de página, 5 figs.
- 1960b. "Introdução à Palinologia e suas aplicações". *Tribuna Farmacêutica*, 28(7-8): 75-80, 3 figs.

* BRAGA, Rubem R., 1959, 1960a, 1960b.
 GOMES JR., J.C., 1948, 1949, 1951, 1955, 1957.
 LABOURIAU, 1948, Labouriau et al. 1948, 1948/49 a, b, c.
 MOREIRA f., Hermes, 1956.
 MOREIRA, A. Xavier, 1960.
 SALGADO LABOURIAU, M. 1961.
 SALGADO LABOURIAU, M. & M. Barth.
 RIZZINI, 1947.

- CAIN, S. A., 1944. *Foundations of Plant Geography*. Harper & Brother, 556pp. N. Y. & London.
- 1945 "The place of Pollen Analysis in Paleocology". *Chronica Bot.* 9(2/3): 106-114.
- GOMES JR., J. C., 1948-49. "Contribuição ao conhecimento das Bignoniaceae brasileiras I Sampaella J. C. Gom., nov. gen.". *Rodriguésia* 23: 107-111.
- 1949 — III. "Novas espécies dos gêneros "Adenocalymma", Clytostoma" e "Saldanhaea" *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*, 9:223-229, 6 est.
- 1951 — V. *Adenocalymma salmoneum*; *Neojobertia Candoleana*; *Pseudocalymma Kuhlmannii*; *Bothriopodium Glaziovii*. *Dusenía* 11(5): 314-316, 4-7 tab.
- 1955. "Contribuição à Sistemática das Bignoniaceae Brasileiras. *Arq. Serviço Florestal*, 9:261-296, 4 est.
- 1957. "Bignoniaceae, in Flora do Itatiaia". *Rodriguésia*, 32:111-127, 1 est.
- CRANWELL, L. M., 1939. "Southern-beech pollens". *Auckland Inst. Mus. Rec.* 2:175-196 (in CAIN, 1944).
- 1940. "Pollen grains in the New Zealand conifers". *N. Zealand Jour. Sci. Tech. B.*, 22:1-17 (in CAIN, 1944).
- ERDTMAN, G., 1943. "An Introduction to Pollen Analysis". *Chron. Bot.*, 239 pp. Waltham, Mass., USA.
- 1952. "Pollen Morphology and Plant Taxonomy — Angiosperms". *Chron. Bot.*, Waltham, Mass., USA 539pp., 261 figs.
- ERDTMAN, G., 1959. "Some remarks on pollen and spore illustration". *Pollen et Spores* 1(1):15-18.
- FAEGRI, K. & J. IVERSEN, 1950. *Textbook of Modern Pollen Analysis*. E. Munksgaard, Copenhagen, Denmark.
- FAEGRI, K. & P. DEUSE, 1960. "Size variation in pollen grains with different treatments". *Pollen et Spores* 2(2): 293-298, 4 tab.
- GODWIN, H., 1933. "British Maglemose Harpoon Site". *Antiquity*, march: 1-13. London.
- 1944. "Neolithic Forest Clearance". *Nature*, (April, 29) 153:511.
- 1956. *The History of the British Flora*. Cambridge at the Univer. Press.
- HAFSTEN, U., 1959. "Bleaching + HF + Acetolysis — A hazardous preparation process". *Pollen et Spores* 1(1):77-79, 2 tab.
- HANSEN, H. P., 1941. "A pollen study of Post-Pleistocene lake sediments in the Upper Sonoran life zone of Washington". *Amer. Journ. Sci.*, 239:503-522.
- 1941. "Paleocology of a bog in the spruce-helmlock climax of the Olympic Peninsula". *Amer. Midland Nat.*, 25:290-297.
- IVERSEN, J., 1941. "Landnan i Danmarks Stenalder (Land Occupation in Denmark's Stone Age)". *Danmark geologiske Undersgelse* II Raekke 66:69, 9 pl. Copenhagen (in GODWIN 1944).
- 1956. "Forest Clearance in the Stone Age". *Scientific American*, march: 36-41.
- LABOURIAU, L. G., 1948. "Estrutura da exina do pólen de *Gladiolus communis* L". *An. Acad. Bras. Ciên.*, 20(3): 285-286, 3 figs.
- LABOURIAU, L. G. & J. C. CARDOSO, 1948. "Sobre a estrutura do exosporio de *Ly-copodium clavatum* LIN" *An. Acad. Bras. Ciên.* 20(3): 281-284, 3 figs.
- LABOURIAU, L. G. & C. RABELO, 1948/49a. "Note sur la structure de l'exine du pollen de *Lilium longiflorum* L". *Rodriguésia*, 22/23:87-89, 4 figs.
- 1948/49b. "Note sur la structure de l'exospore du pollen d'*Hybiscus tiliaceus* St. HIL." *Rodriguésia*, 22/23:95-98, 3 figs.
- 1948/49c. "Note sur la structure de l'exospore d'*Anemia collina* RAD". *Rodriguésia*, 22/23:99-105, 5 figs.

- MEINKE, H., 1927. "Atlas und Bestimmungsschüssel zur Pollenanalytik". *Bot. Arch.*, 29:380-449.
- MOREIRA FILHO, H., 1956. "Microtécnica do Pólen". *Tribuna Farmacêutica*, 24(3) : 33-40, 3 figs.
- MOREIRA, A. XAVIER, 1960. "Considerações sobre a morfologia polínica. Trimorfismo do pólen de *Ceiba erianthos* K. SCH.". *Bol. Mus. Nacional*, (Botânica 24) : 1-6.
- POTTER, L. D., 1947. "ost-glacial forest sequence of North-Central Ohio. *Ecology* 28(4) :396-417.
- FRAGLOWSKI, J. R., 1959. I. "On the swelling of pollen grain in glycerine jelly". *Botaniska Notiser* 112(2) :175-177, Lund, Suécia.
- RIZZINI, C. T. 1947. "Estudos sobre as Acanthaceae". *Bol. do Museu Nacional* 8:1-38, 13 tab.
- ROWLEY, J. R., 1955. "A study of Recent Pollen at Lake Itasca Biological Station." *Proceedings of the Minnesota Academy of Science*, 23:50-60.
- SALGADO LABOURIAU, M. L., 1961. "Pollen grains of plants of the "cerrado" — I". *An. Acad. Bras. Ciênc.* 33(1) :119-130, 9 figs.
- SALGADO LABOURIAU, M. L. e M. BART., *Pollen grains of plants of the cerrado — II.* No prelo.
- VAN CAMPO, M., 1958. "Palynologie Africaine" II. *Bull. Institute Française Afrique Noire* XX, série A (3) : 753-760, 25-48 pl.
- 1959. "Presentation des planches de pollen". *Pollen et Spores*, 1(1) :49-58.
- WILSON, L., 1952. "Les tourbières livrent le secret des forêts disparues". *Science et Aventures* 7(12) : 249-250, 252, 255-256. L'Impri. BERNARD Lt., Berthierville, Canadá.
- WODEHOUSE, R. P., 1935. *Pollen grains*. McGraw-Hill Book Co., N. Y., 1st. ed., 574 pp., 123 figs.
-