

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Eficácia de tratamentos polínicos em espécies de Angiospermas com grãos de pólen frágeis

João Vitor Marani Amaral

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Ituiutaba - MG

Julho – 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Eficácia de tratamentos polínicos em espécies de Angiospermas com grãos de pólen frágeis

João Vitor Marani Amaral

Lucas Matheus da Rocha

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Ituiutaba - MG

Julho - 2018

“Dedico este trabalho a minha mãe Adriana, familiares, amigos e ao meu pai Ademilson (*in memorian*) que não pode vivenciar esse momento, mas que ajudou muito para que eu chegasse até aqui.”

Agradecimentos

A minha família que sempre foram e serão à base de tudo.

Aos meus amigos da faculdade que fizeram essa fase ser a melhor da minha vida.

Aos meus amigos de Orlândia que mesmo de longe deram apoio de alguma forma.

A minha namorada Marcela que sempre esteve ao meu lado me apoiando.

Aos Professores da UFU- Pontal pela atenção, amizade e companheirismo.

Ao Laboratório de Botânica pelo espaço e material fornecido.

Ao Prof^o Dr. Lucas Matheus da Rocha, pela amizade, acompanhamento em pesquisas, orientação e conhecimento passado.

A Prof^a Dra. Katia Gomes Facure Giarretta pela a ajuda nas análises estatísticas e confecção dos resultados.

A Kênia, técnica de laboratório, pela companhia e ajuda em diversos aspectos.

E agradeço as pessoas que de alguma forma fizeram parte desse trabalho.

Resumo

A membrana externa do grão de pólen (Exina) é constituída de uma substância peculiar, onde suas propriedades são bem distintas de todas as outras membranas das células vegetais. Os tratamentos polínicos têm a função de promover limpeza dos grãos de pólen para a melhor visualização de sua morfologia, ornamentação e detalhes de sua estrutura. O presente estudo busca comparar a eficácia de três tratamentos polínicos: um químico convencional (Acetólise), outro químico alternativo (Hidróxido de sódio) e um não químico convencional (Wodehouse), em grãos de pólen de espécies de Angiospermas com grãos de pólen frágeis. Os pólenes das cinco espécies estudadas foram submetidos aos tratamentos referidos e em seguida lâminas foram confeccionadas para a análise da morfologia, morfometria e estatística comparativa do palinomorfo. Cada espécie apresentou comportamento distinto para cada método, onde em três espécies o tratamento com o Hidróxido de Sódio foi mais eficaz, sendo nas outras duas, o Acetolítico o mais efetivo. Assim, a manutenção da forma original do grão de pólen não só depende do tratamento aplicado, mas também da resistência específica da exina de cada espécie estudada.

Palavras-chave: Tratamentos polínicos, palinologia, pólen frágil.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVO.....	8
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
3.1. <i>Aphelandra longiflora</i> (Lindl.) Profice (Acanthaceae).....	12
3.1.1. Morfologia polínica.....	12
3.1.2. Morfometria.....	12
3.1.3. Fotomicrografias.....	13
3.1.4. Estatística comparativa.....	14
3.2 <i>Commelina erecta</i> L. (Commelinaceae).....	16
3.2.1. Morfologia polínica.....	16
3.2.2. Morfometria.....	16
3.2.3. Fotomicrografias.....	17
3.2.4. Estatística comparativa.....	18
3.3. <i>Dichorisandra thyrsiflora</i> J.C Mikan (Commelinaceae).....	20
3.3.1. Morfologia polínica.....	20
3.3.2. Morfometria.....	20
3.3.3. Fotomicrografias.....	21
3.3.4. Estatística comparativa.....	22
3.4 <i>Justicia nodicaulis</i> (Nees) Leonard (Acanthaceae).....	24
3.4.1. Morfologia polínica.....	24
3.4.2. Morfometria.....	24
3.4.3. Fotomicrografias.....	25
3.4.4. Estatística comparativa.....	26
3.5. <i>Musa ornata</i> Roxb. (Musaceae).....	28
3.5.1. Morfologia polínica.....	28

3.5.2. Morfometria.....	28
3.5.3. Fotomicrografias.....	29
3.5.4. Estatística comparativa.....	30
4. CONCLUSÃO.....	32
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
6. ANEXO 1.....	33

1. INTRODUÇÃO

As angiospermas representam o filo Antófitas, o qual inclui 257 mil espécies atuais, sendo assim, é de longe, o maior filo de organismos fotossintetizantes, sendo extremamente diversas nas suas características vegetativas e florais. Em termos de sua história evolutiva, as angiospermas são um grupo de plantas com sementes com características especiais: flores, frutos e um ciclo de vida distinto, que as tornam diferentes de todas as outras plantas [21].

As angiospermas compartilham tantas características únicas que é evidente que são monofiléticas (derivadas de um único ancestral comum). Elas compreendem inúmeras linhas evolutivas, algumas com apenas poucos membros, e duas muito grandes, as classes Monocotyledonae (monocotiledôneas), com pelo menos 65.000 espécies e as Eudicotyledonae (eudicotiledôneas), com pelo menos 190.000 espécies [21].

As monocotiledôneas constituem a segunda maior linhagem das mesangiospermas (grupo incluindo plantas com flores, exceto as angiospermas basais e grado ANA) [5] que retêm algumas das características basais das angiospermas como pólen monoaperturado e trimeria das flores (partes florais em número de três) [21].

A flor é um sistema caulinar determinado, ou seja, um ramo que cresce por um tempo limitado, com esporófilos, os quais são folhas que portam esporângio. Os estames, partes da flor que portam o pólen, são coletivamente denominados androceu (“casa do homem”) – são microsporófilos. Em geral, nas angiospermas, o estame consiste em um pedúnculo delgado ou filete, em cuja extremidade se apresenta uma antera bilobada, contendo quatro microsporângios ou sacos polínicos em dois pares, uma característica que pode ser usada para definir as angiospermas [21].

Desde a antiguidade o grão de pólen já era conhecido e utilizado como fonte de alimento [27]. Conforme a melhoria no desenvolvimento da microscopia [23], naturalistas do século XVII se interessaram pelos grãos. Um dos primeiros a estudá-los foi Francis Bauer (1758- 1840), catalogando 181 espécies de plantas [27]. À medida que progredia o aperfeiçoamento da óptica, foi possível se empregar as primeiras generalizações [22]. O anatomista Fritzsche (1837) [17] nomeou as duas camadas da parede do grão de pólen, exina, a mais externa, e intina, a mais [38, 19].

A palavra palinologia foi criada por Hyde e Williams para designar o estudo morfológico do pólen e dos esporos, com como de sua dispersão e aplicações [21], mas o conceito hoje adotado por essa ciência foi criado por Erdtman (1952) [13] que a define como a ciência do pólen e do esporo, principalmente das paredes dessas células e não do seu interior vivo.

A membrana externa do grão de pólen (Exina) é constituída de uma substância peculiar, onde suas propriedades são bem distintas de todas as outras membranas das células vegetais. Esta membrana é extremamente resistente a ácidos, dificilmente saponificável e elástica. Sua extraordinária resistência a degradação e irregular insolubilidade tem dificultado seu estudo químico, mas Zetzsche¹ (1932) estabeleceram que a exina era provavelmente de natureza politerpênica, de forma bruta $C_{90}H_{144}O_x$ [23]. Este material foi denominado “esporopolenina” por constituir a exina dos pólenes (Angiospermas e Gimnospermas) e esporos (Pteridófitas) (Wetzel², 1938) [23]. A proporção O/H da esporopolenina pode variar entre as espécies, o que parece indicar que não se trata de uma substância única, mas sim de um grupo de substâncias afins.

¹ Zetzsche F. Die Sporopollenine. p 205-215. Handbuch der Pflanzenanalyse, II, Springer Verlag, Viena, 1932 apud [22].

² Wetzel K. Chemie und Stoffwechsel. Manual oh Pteridology: 347-381, 1938. apud [22].

A intina do grão é de natureza complexa, mas sua composição e formação são semelhantes as das membranas primárias das células somáticas (Zitzsche³, 1932) [23].

No século XX iniciou-se uma nova fase nos estudos da morfologia polínica. Até então o pólen era usado somente como um carácter acessório na sistemática, mas a descoberta da aplicação de seu estudo na paleontologia, medicina, arqueologia e na prospecção do petróleo incentivou o conhecimento mais preciso e a criação de métodos melhores para preparação e tratamento do grão [23].

Os tratamentos polínicos têm a função de promover a limpeza dos grãos para a melhor visualização de sua morfologia, ornamentação e detalhes de sua estrutura. Assim o presente trabalho pretende comparar a eficácia de três diferentes tipos de tratamento polínicos (Wodehouse, Acetolítico e Hidróxido de sódio) para grãos de algumas espécies de monocotiledôneas, que de maneira geral, segundo a literatura possuem pólenes mais frágeis e poderiam ser beneficiadas da utilização de tratamentos polínicos alternativos.

Os métodos possuem características muito distintas, o método de Wodehouse não usa nenhuma substância agressiva, deixando assim o grão praticamente “in natura” não prejudicando consideravelmente sua forma natural, porém o deixa com o conteúdo interno o que dificulta sua análise morfológica. O método acetolítico [13] usa substâncias muito ácidas como ácido sulfúrico e anidrido acético, isso limpa todo o conteúdo interno do pólen e conserva apenas a exina para a análise morfológica, mas para alguns grupos como monocotiledôneas que possuem grãos frágeis, este tratamento pode ser muito agressivo, podendo deformar e até mesmo romper os palinórfos. Já o método do Hidróxido de sódio (Tratamento alternativo) [36], que foi pouco descrito na literatura, usa uma mistura branda de NaOH que busca limpar os grãos frágeis sem deformação para posterior análise.

No presente estudo foram analisadas espécies três famílias, sendo elas: Acanthaceae, Commelinaceae e Musaceae

De acordo com Selling⁴ (1947) e Erdtman (1952) [13] as Acanthaceae possuem grãos de pólen muito variados [23]. O gênero *Justicia* L. pertence a tribo Justicieae, uma das maiores tribos dentro de Acanthaceae. Análises filogenéticas corroboram o monofiletismo da tribo (McDade & Moody, 1999) [9], que tem como principal sinapomorfia o grão de pólen tricolporado hexapseudocolpado. Esta possui quatro tipos polínicos *sensu* Lindau⁵ (1895) [9]: grãos de pólen 3-colporados e 6-colpados (*Spangpollen*); 3-colporados e 6-sincolpados (*Rhampollen*); 2-3-colporados e 4-6-sincolpados com até quatro fileiras de aréolas margeando os cólporos (*Knötchenpollen*) e grãos de pólen lenticulares ou elipsoidais, 2-porados com um cinturão de espinhos na borda das aberturas (*Gürtelpollen*) [9]. Scotland & Vollensen (2000) [28], com base em uma seleção dos caracteres homólogos estabeleceram uma nova classificação para a família Acanthaceae. Incluíram os gêneros *Geissomeria* e *Aphelandra* R. na subfamília Acanthoideae e na tribo Acantheae (ausência de cistólitos, quatro estames com anteras monotecas e grãos de pólen colpados).

A família Commelinaceae não apresenta muitas variações em seus palinórfos, são estenopalínológicas [13]. Segundo Faden & Hunt (1991) [4] as Commelinaceae são divididas em duas tribos (Cartonematoideae e Commelinoideae), sendo Commelinoideae divididas ainda em duas subtribos, onde o grão de pólen se comporta como um diferencial entre elas, com isso Tradescantieae possui grãos com exina não espinulosa e Commelineae pólenes com exina espinulosa. O gênero *Dichorisandra* citado acima pertence a tribo

³ Zetzsche F. Die Sporopollenine. p 205-215. Handbuch der Pflanzenanalyse, II, Springer Verlag, Viena, 1932 apud [22].

⁴ Selling OH. Studies in Hawaiian pollen statistics, part II. The pollens of the Hawaiian Phanerogams, 430 p. Bishop Museum, Hawaii, 1947 apud [22].

⁵ Lindau G. Acanthaceae. In: A.H.G. Engler & K.A.E. Prantl (eds.). Die natürlichen Pflanzenfamilien. Engelmann, Leipzig, v.4(3b), pp. 274-354, 1895 apud [9]

Tradescantieae; já o gênero *Commelina*, também falado, pertence a tribo Commelineae [3]. O trabalho de Markgraf e D' Antoni⁶ (1978) [38] encontrou dados em *Commelina* sp. que se enquadram nas descrições de Erdtman (1952) [13].

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo comparar a eficácia dos tratamentos polínicos químicos (Acetólise e Hidróxido de sódio) comparados ao método de Wodehouse, em grãos de pólen de algumas espécies de monocotiledôneas. Verificando estatisticamente as alterações causadas por cada um deles no tamanho dos grãos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O material botânico utilizado foi coletado na mata de dois parques municipais, sendo o Cyro Armando Catta Preta (20°43'40"S, 47°53'56"W), localizado no município de Orlândia-SP e no Parque municipal do Goiabal (19°00'15"S, 49°27'13"W), localizado em Ituiutaba-MG. As coletas foram realizadas com auxílio de tesoura de poda, saco plástico e fita crepe (identificação do número de coleta) e caderno de coleta (anotações sobre o campo).

Das plantas coletadas foram retiradas as anteras férteis para se aplicar os métodos de tratamento e análise dos Grãos de pólen que serão descritos a seguir. As flores e folhas foram secas, tombadas e armazenadas em exsiccatas no freezer do laboratório de botânica para arquivo didático.

Existem vários métodos para a preparação de pólen para exame ao microscópio. Para o estudo palinológico é necessário apenas a exina (membrana externa) que é uma membrana elástica que pode ser modificada conforme o grau de hidratação a que o pólen está sujeito. Deste modo, o estudo palinológico não pode ser baseado em grãos frescos montados em água [23].

Assim foram utilizados três métodos distintos de tratamento conforme já citado, sendo eles:

3.1 - Método de Wodehouse: consiste na maceração das anteras férteis com álcool 70% para retirada das impurezas, com a ajuda de um estilete, se pega uma pequena porção de gelatina glicerizada e a esfrega no macerado de anteras, após isso a porção é colocada em lâminas para aquecimento, que posteriormente são lutadas com parafina, analisadas e armazenadas na palinoteca do Laboratório de Botânica [39].

3.2 - Método de acetólise: que foi criado por Erdtman (1952) [13] e consiste em reagir à esporopolenina (substância que compõe a membrana externa do grão) com anidrido acético em meio ácido. Com este processo a exina (membrana externa) fica transparente e a intina e o conteúdo celular do grão são destruídos; deste modo a exina, por suas características morfológicas, pode ser então estudadas em todos os detalhes para a possível identificação do grão [23].

Método segundo Erdtman (1952) [13]:

1. Retire as tecas e estames. Coloque em tubos de vidro com 1 ml de ac. Acético. Deixe no mínimo por um dia.
2. Passe para tubos de centrífuga, sendo uma espécie em cada tubo, centrifugue com 1000 rpm (rotações por minutos) durante 5 minutos.
3. Decante o sobrenadante.
4. Prepare o mistura de acetólise: 9 partes de anidrido acético e uma parte de ac. Sulfúrico. Coloque o volume de anidrido e vá acrescentando o ac. Sulfúrico em pequenas gotas e agitando com o bastão de vidro.

⁶ Markgraf V, D'Antoni HL. Pollen flora of Argentina. Tucson: The University of Arizona Press, 1978. 208 p. apud [35]

5. Distribua 5 ml da mistura acetolítica em cada tubo com sedimento. Triture cada material utilizando o bastão de vidro.
6. Leve os tubos ao banho-maria. Ferva durante 2 minutos.
7. Leve a centrífuga e centrifugue por 5 minutos com rotação de 1000 rpm.
8. Tire o sobrenadante e o descarte adequadamente.
9. Acrescente água destilada (10 ml) e adicione 1 a 2 gotas de álcool etílico e agite o tubo;
10. Centrifugue e decante (1000 RPM por 5 minutos)
11. Acrescente água com glicerina em partes iguais. Deixe ficar ao menos 30 minutos.
12. Centrifugue e ao decantar conserve o tubo de cabeça para baixo.
13. Comece a montagem das lâminas.

3.3 - Método do hidróxido de sódio (NaOH): consiste em colocar as anteras maduras em um tubo de centrifugação e banhá-las com uma solução de NaOH (Hidróxido de sódio) à 10% durante 15 minutos e, em seguida, centrifugá-las por 5 minutos a 1000 rpm. Após o banho, os tubos são emborcados e lâminas permanentes montadas [36].

A montagem de lâminas seguiu o modo descrito pelo laboratório de abelhas da USP (Universidade de São Paulo) que se desenvolve nos seguintes passos:

1. Retirar uma pequena porção de gelatina glicerinada;
2. Tocar o material depositado de modo que algum material fique preso na gelatina;
3. Colocar o conjunto em uma lâmina de microscópio (três lâminas para cada material)
4. Aquecer a lâmina para a fusão da gelatina;
5. Colocar a lamínula delicadamente sobre o material;
6. Lutagem;

Para analisar a viabilidade dos grãos de pólen foi realizada a identificação e classificação dos mesmos, quando possível, de acordo com a sua unidade polínica, tamanho, simetria, polaridade, âmbito, forma, aberturas e ornamentação. Para cada espécie foram realizadas medidas, aleatoriamente, do diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE) para grãos que se demonstraram polares; e diâmetro 1 (D1) e diâmetro 2 (D2), sendo esses perpendiculares, para grãos apolares. Foram mensurados no mínimo 10 grãos de pólen para cada espécie de cada tratamento, calculando-se a média aritmética ($\bar{x}$), desvio padrão da média (s_x) e o intervalo de confiança (IC), para a determinação do formato dos grãos seguiu a tabela de classes de pólen quanto à forma proposta por Salgado-Labouriau, que usa a razão diâmetro polar (DP) sobre diâmetro equatorial (DE) para a classificação dos palinomorfs.

Com as medidas obtidas para cada tratamento, realizamos uma comparação estatística por gráficos de dispersão com duas variáveis quantitativas e diagramas de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis. A intenção foi analisar metricamente as deformações que cada tratamento causa ao grão, tendo como padrão o pólen submetido ao método de Wodehouse, já que este não é exposto a nenhuma substância química corrosiva, permanecendo próximo do tamanho “in-natura” do palinomorfo.

Houve ainda, captura de fotomicrografias de todas as espécies, para cada tratamento, para análise detalhada de toda a estrutura do grão e também para fins comparativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies de monocotiledôneas analisadas neste trabalho apresentaram variadas formas e tamanhos de grãos, inclusive para a mesma espécie entre os diferentes tratamentos, assim foi possível observar qual método foi mais eficaz e com menor risco de deformação ao pólen. As análises morfométricas comparativas foram compostas de cinco espécies de três famílias, sendo elas *Aphelandra longiflora* e *Justicia nodicaulis* da família Acanthaceae; *Commelina erecta* e *Dichorisandra Thyrsiflora* da família Commelinaceae e *Musa ornata* da família Musaceae.

Abaixo será apresentada a morfologia, morfometria, fotomicrografias e comparação

estatística para cada espécie de modo detalhado.

3.1 *Aphelandra longiflora* (Lindl.) Profice (Acanthaceae)

Localidade: Brasil, Estado de Minas Gerais, município de Ituiutaba, Parque Municipal do Goiabal. **Habitat:** Cerradão. **Observações:** Espécie considerada terrestre, arbustiva ou herbácea. Atinge entre 0,35 - 1,5 m de altura. Apresenta floração mais intensa no Outono e início do inverno (de abril a junho) [28]. **Coletor:** Amaral, J.V.M, 2018.

3.1.1. Morfologia polínica:

Grãos de pólen em mônades, grande, simetria radial, polar, forma perprolato, monocolpado, exina rugulada.

De acordo com o trabalho de revisão taxonômica de *Aphelandra* R. de Profice e Andreata (2011) [28], os grãos de pólen das espécies analisadas em seu estudo são isopolares, perprolato, 3-colpados, colpos longos chegam a atingir os polos, estreitos com a membrana e a margem ornamentada. Para *A. longiflora* a exina é rugulada, geralmente, no mesocolpo com rúgulas conspícuas.

3.1.2 Morfometria:

Tabela 1 – Dados morfométricos para os três tratamentos polínicos: DP: diâmetro polar; DE: diâmetro equatorial; DP/DE: divisão das médias para determinar o formato do grão; FV: faixa de variação; IC: intervalo de confiança (95%); $\bar{X}$: Média. Medidas em micrômetro.

<i>Aphelandra longiflora</i>								
Tratamento	Diâmetro Polar			Diâmetro Equatorial			DP/DE	Formato
	FV	$\bar{x}$	IC	FV	$\bar{x}$	IC		
Wodehouse	66,0 - 75,0	70,0	69,0 - 71,0	27,0 - 30,0	28,0	27,5 - 28,4	2,33	Perprolato
Hidróxido	69,0 - 78,0	73,4	72,6 - 74,3	30,0 - 34,5	31,8	31,2 - 32,4	2,31	Perprolato
Acetólise	90,0 - 105,0	97,5	95,5 - 99,4	41,1 - 54,0	46,5	45,3 - 47,8	2,09	Perprolato

3.1.3 Fotomicrografias:

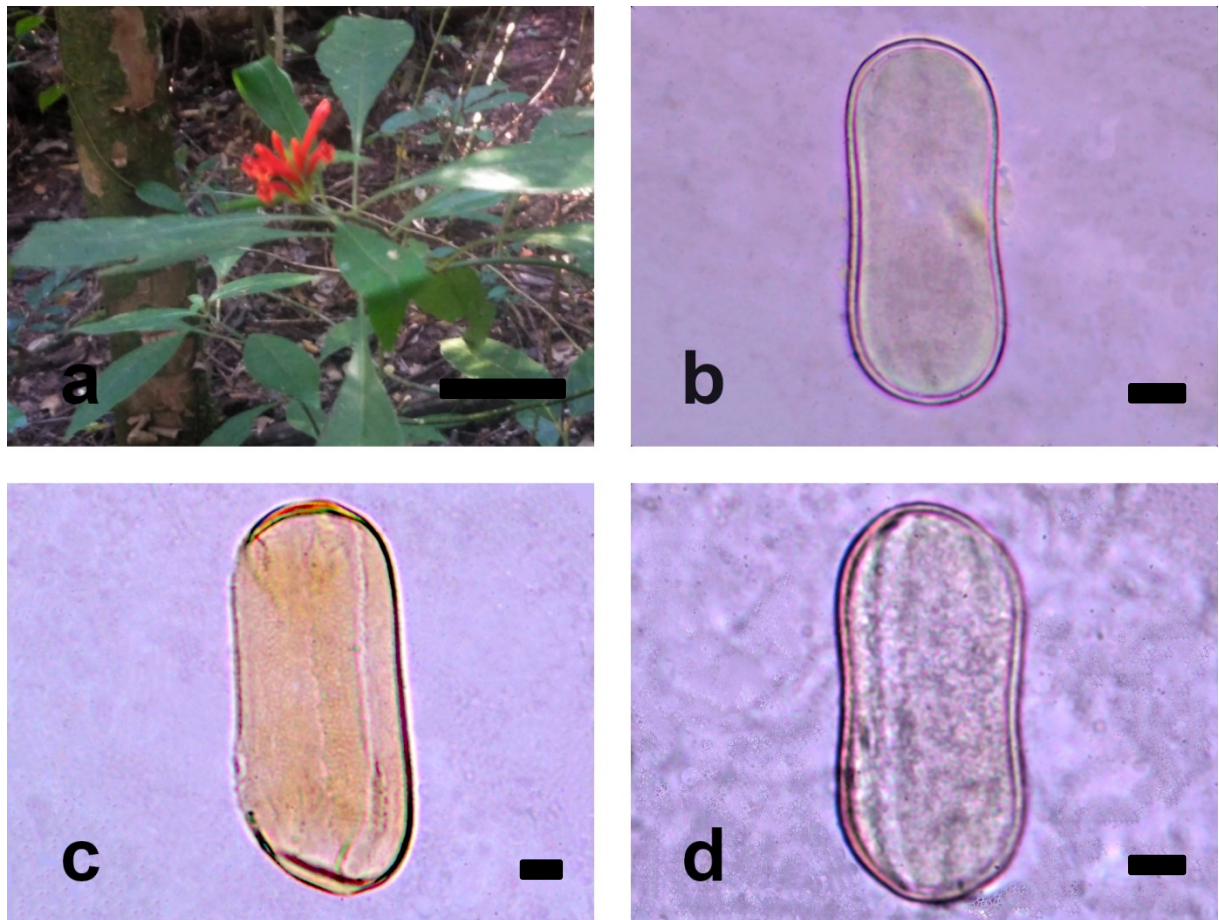


Figura 1. A - Fotografia de *Aphelandra longiflora*. Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies estudadas. B-D. *Aphelandra longiflora*. B- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento de Wodehouse. C- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento acetolítico. D- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento de Hidróxido de sódio. Barra de escala: a = 10 cm. b-d = 10 μ m.

3.1.4 Estatística comparativa:

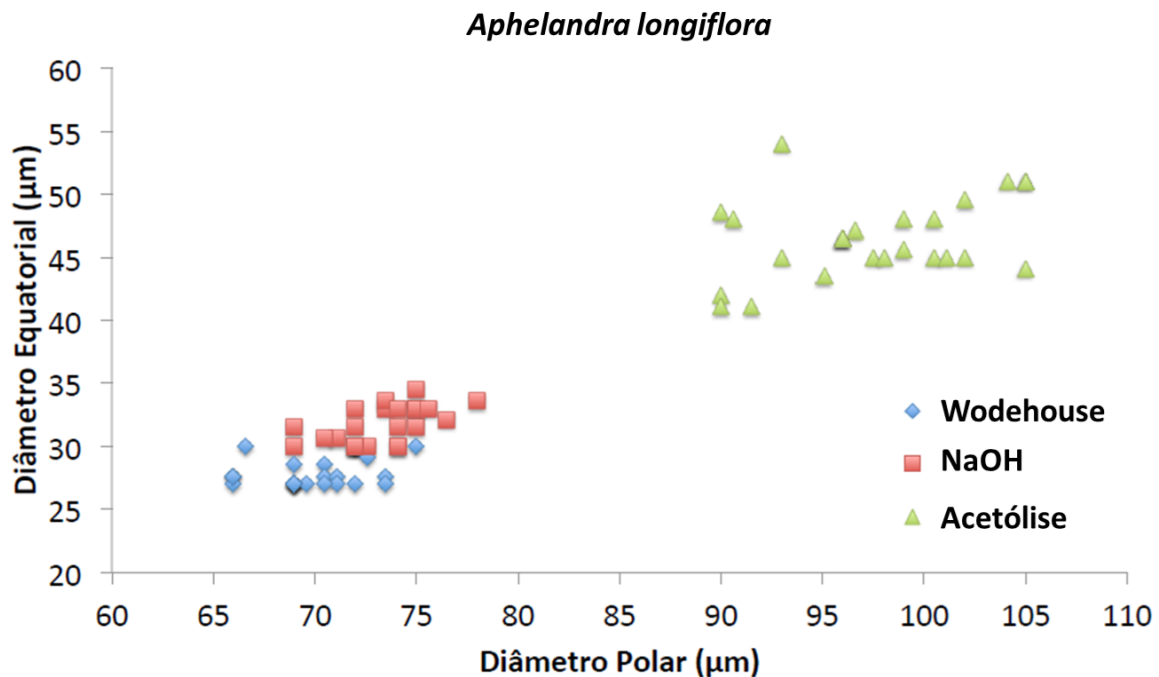


Figura 2: Gráfico de dispersão com duas variáveis quantitativas

Analisando o gráfico de dispersão (Figura 2), observamos que o método acetolítico foi o que mais alterou o tamanho do grão nas duas variáveis, podemos também ver que foi uma dispersão esparsa com baixo nível de correlação. Já para método do hidróxido a dispersão foi muito mais correlativa e com linearidade positiva, sem muita alteração na dimensão do pólen, assim se aproximando bastante do método adotado como padrão (Wodehouse).

Na figura 3, podemos detalhar a simetria das medidas para o diâmetro polar dos tratamentos de Wodehouse e NaOH, com suas respectivas caixas bem pareadas em uma pequena faixa de variação. Já para o diâmetro equatorial (Figura 4) não houve simetria entre nenhum método, mas ainda assim o tratamento de hidróxido de sódio é o que mais se aproxima do método de Wodehouse comparado com o acetolítico.

Aphelandra longiflora

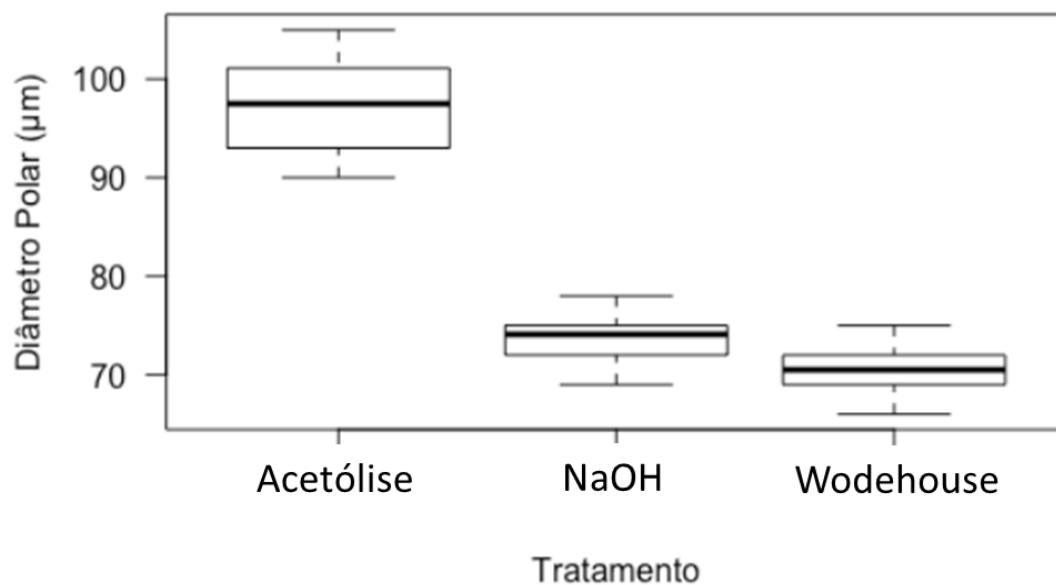


Figura 3: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis

Aphelandra longiflora

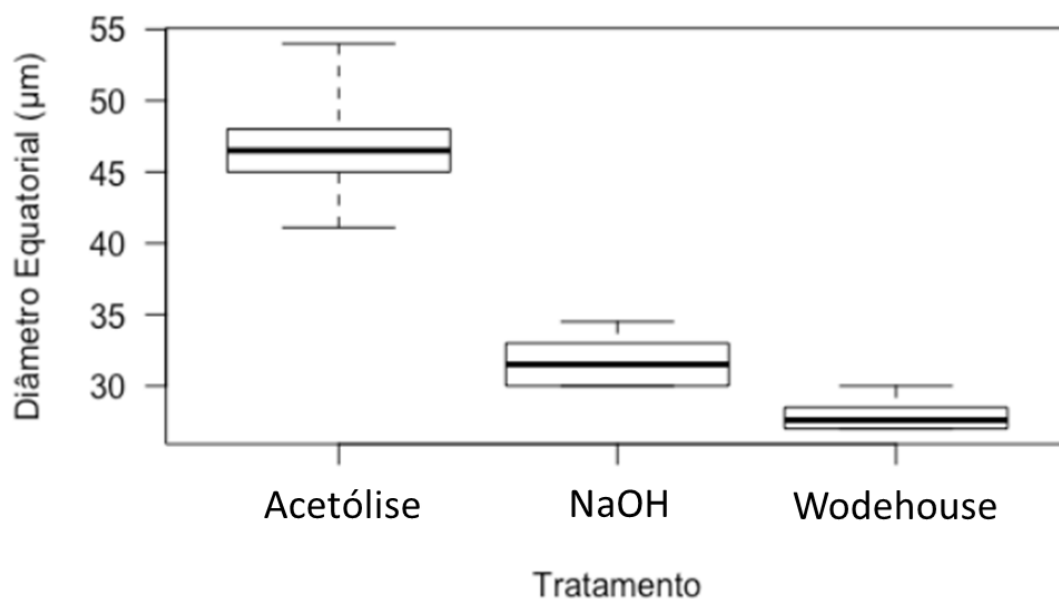


Figura 4: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis

Verificando toda a análise dos gráficos, podemos alegar que o melhor método químico para se tratar o grão de pólen de *Aphelandra longiflora*, é o método do hidróxido de sódio, já que este não causou grandes modificações na conjuntura do palinomorfo.

3.2 *Commelina erecta* L. (Commelinaceae)

Localidade: Brasil, Estado de São Paulo, município de Orlândia, Parque Municipal Cyro Armando Catta Preta. **Habitat:** Cerradão. **Observações:** Erva erecta com cerca de 25 cm de altura, semi-ciófila, folhas membráceas discolores verdes, inflorescência erecta, brácteas verdes e cálice azul. **Coletor:** Amaral, J.V.M, 2018.

3.2.1. Morfologia polínica:

Grãos de pólen em mônades, grande, simetria radial, apolar, âmbito subcircular, forma subprolato, inaperturado, exina equinada.

Takeda et al. (2001) [37] analisaram a morfologia da trapoeraba *Tradescantia crassula* Link et Otto, mostrando um grão de formato prolato, tamanho médio, exina delgada e escabrada (não espinulosa), diferindo assim em diversos aspectos da morfologia de *Commelina erecta* L. (também trapoeraba) mostrada acima. Mesmo a família Commelinaceae não apresentando muitas variações polínicas [13], a análise citada e a realizada concordam com o trabalho de Faden & Hunt (1991) que afirma que o gênero *Tradescantieae* possui grãos com exina não espinulosa e *Commelineae* pólenes com exina espinulosa [4].

3.2.2. Morfometria:

Tabela 2 – Dados morfométricos para os três tratamentos polínicos: DP: diâmetro polar; DE: diâmetro equatorial; DP/DE: divisão das médias para determinar o formato do grão; FV: faixa de variação; IC: intervalo de confiança (95%); $\bar{X}$: Média. Medidas em micrômetro.

<i>Commelina erecta</i> L.								
Tratamento	Diâmetro Polar			Diâmetro Equatorial			D1/D2	Formato
	FV	$\bar{x}$	IC	FV	$\bar{x}$	IC		
Wodehouse	45,0 - 66,0	52,4	50,6 - 54,3	36,0 - 51,6	43,4	42,0 - 44,8	1,21	Subprolato
Hidróxido	63,0 - 75,6	70,3	68,7 - 72,0	45,0 - 63,0	54,3	52,2- 56,6	1,30	Subprolato
Acetólise	39,0 - 54,0	44,9	43,2 - 46,6	33,0 - 45,6	38,9	37,3 - 40,4	1,15	Subprolato

4.2.3. Fotomicrografias:

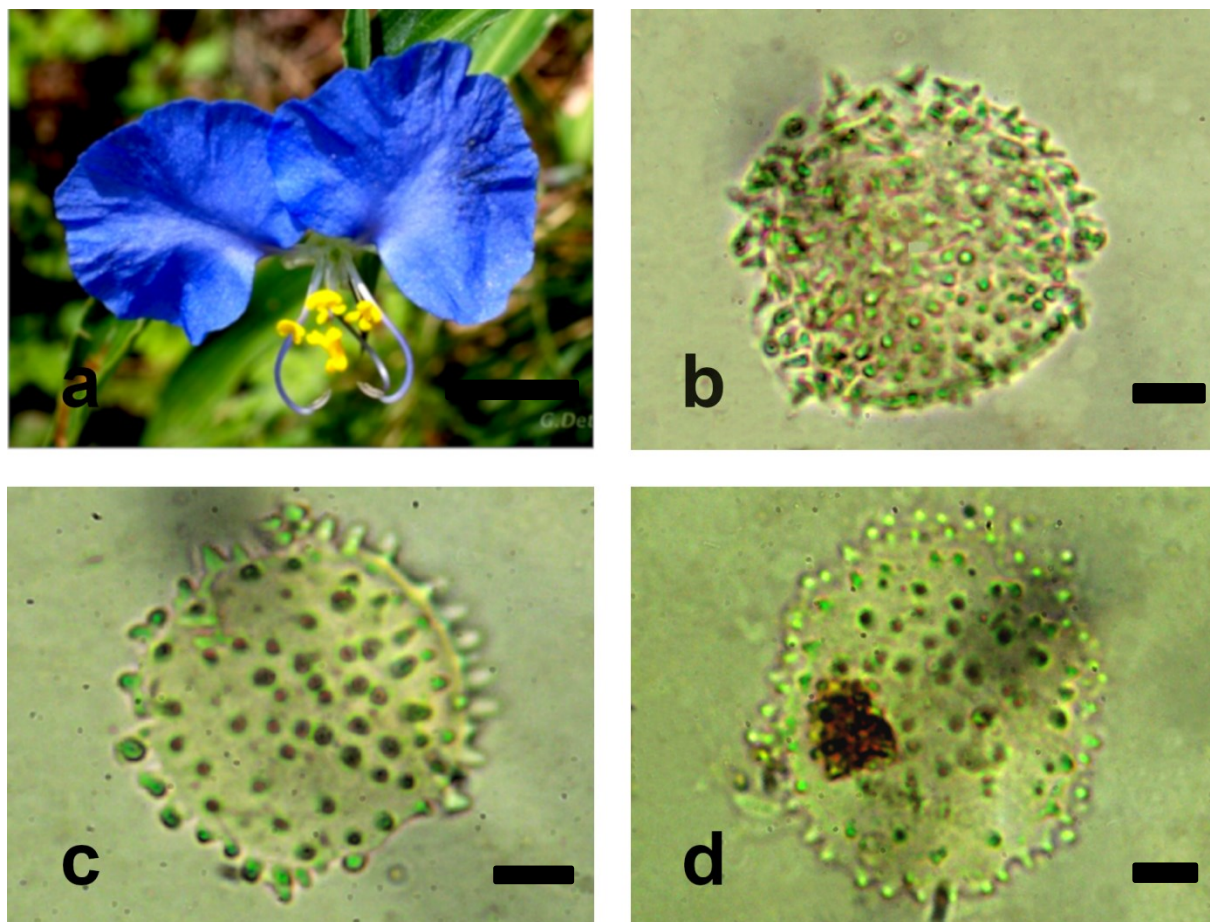


Figura 5. a - Fotografia de *Commelina erecta* (Foto de G. Dettke, 2018; retirada de Aona e Pellegrini, 2015). Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies estudadas. b-d. *Commelina erecta*. b- Vista polar, L.O, Tratamento de Wodehouse. c- Vista equatorial, O.L, Tratamento acetolítico. d- Vista equatorial, O.L, Tratamento de Hidróxido de sódio. Barra de escala: a = 1 cm. b-d = 10 μ m.

3.2.4 Estatística comparativa:

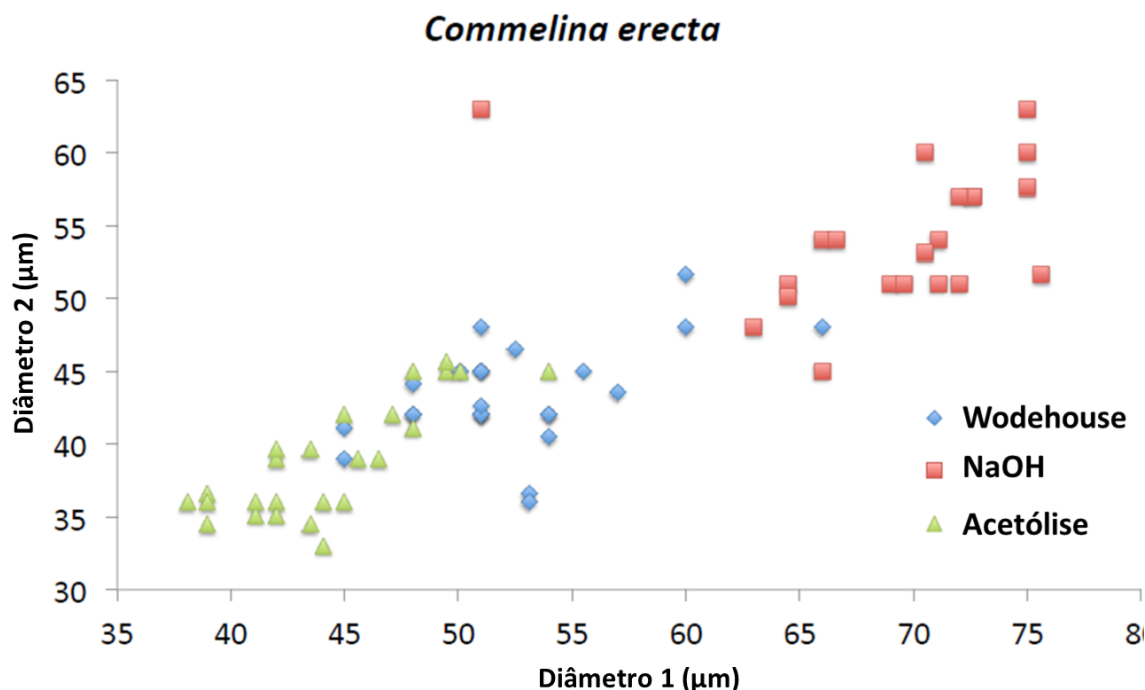


Figura 6: Gráfico de dispersão com duas variáveis quantitativas

De acordo com o gráfico da Figura 6 os tratamentos químicos (NaOH e acetólise) deformaram os grãos, sendo que a acetólise causou a diminuição do palinomorfo e o NaOH inchou o grão. Porém o método acetolítico apresentou alguns grãos próximos a distribuição dos poléns do método de Wodehouse (padrão), enquanto o método alternativo de Hidróxido de sódio se dispersou distantemente do tratamento padrão. Apesar de os dois terem causado deformidades no grão, nenhum deles causou danos à forma do pólen, já que quando o diâmetro 1 (D1) aumentou, o diâmetro 2 (D2) também teve aumento, sendo assim a razão D1/D2 não se alterou.

A Figura 7 corrobora a análise feita acima, onde o diâmetro 1 para os tratamentos se alterou, sendo que para a acetólise ficou menor e para o hidróxido teve aumento, também pode-se observar pouca simetria quando se comparam os valores máximo e mínimo dos três métodos. Para o diâmetro 2 (Figura 8) o mesmo acontece, porém a simetria para os valores máximo e mínimo é pouco ou quase inexistente, enquanto a simetria das medianas é maior se comparado ao gráfico do D1.

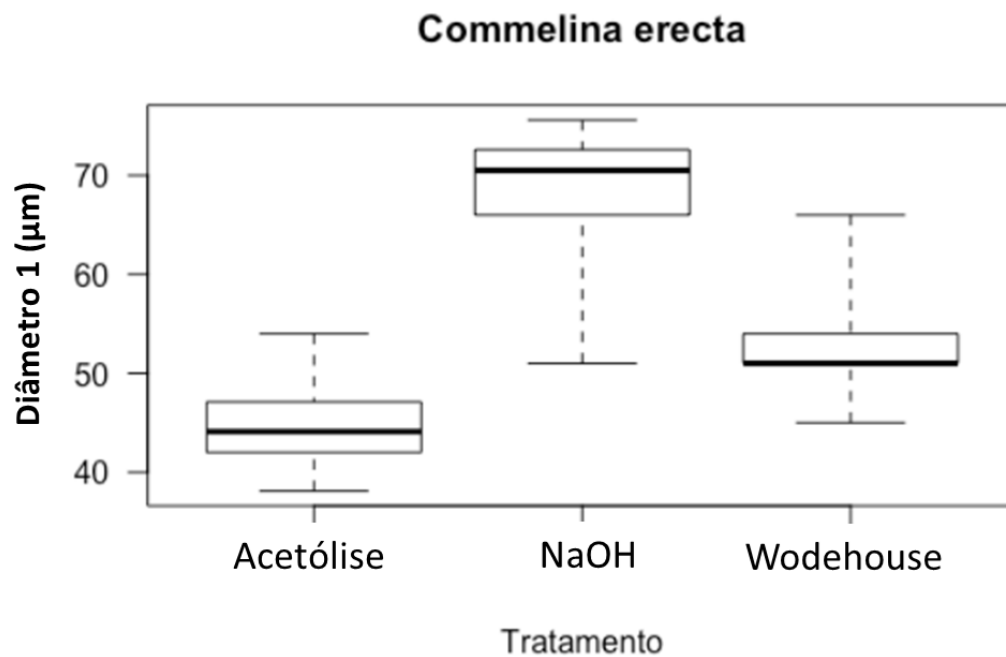


Figura 7: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis

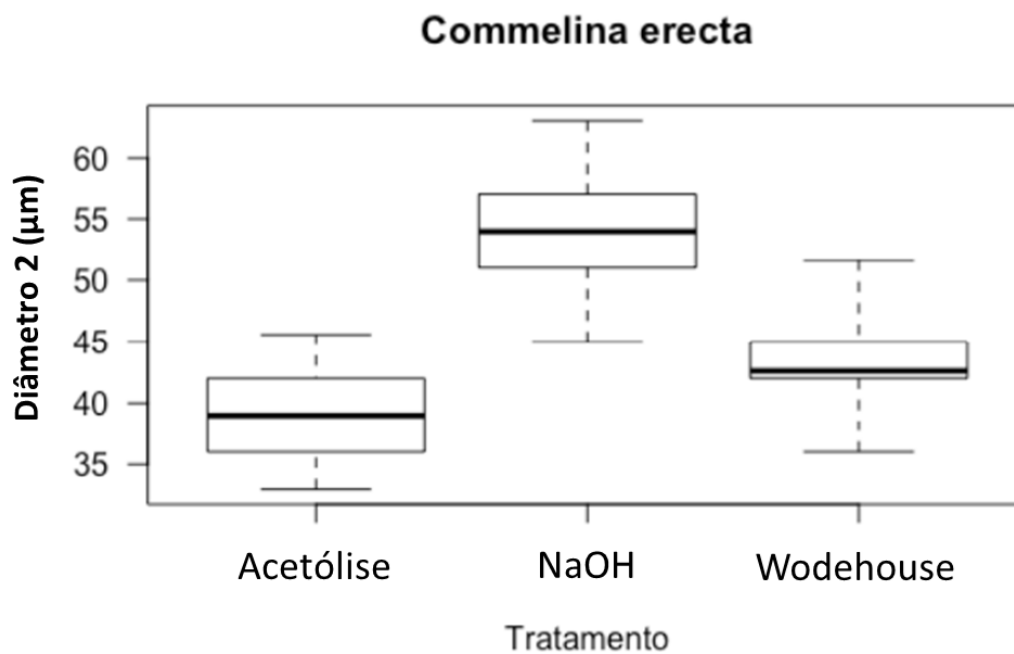


Figura 8: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis

Com todas estas informações, observamos que para esta espécie, nenhum dos dois tratamentos químicos manteve a formação regular do grão, porém de acordo com a análise

estatística o método acetolítico foi o que menos causou deformidades comparadas ao Wodehouse.

3.3 *Dichorisandra thyrsiflora* J.C Mikan (Commelinaceae)

Localidade: Brasil, Estado de São Paulo, município de Orlândia, Parque Municipal Cyro Armando Catta Preta. **Habitat:** Cerradão. **Observações:** Cerca de 1,5 m de altura, face adaxial mais escura que a face abaxial, frutos com arilo branco. **Coletor:** Amaral, J.V.M, 2018.

3.3.1. Morfologia polínica:

Palinomorfos em mônades, médio, simetria radial, polar, forma prolato, monocolporado, exina rugulada.

A espécie em questão pertence à tribo Tradescantieae que segundo Faden & Hunt (1991) possuem grãos com exina não espinulosa [4], com isso a espécie está de acordo com o estudo. Ela também se difere da espécie apresentada anteriormente, tanto no tamanho quanto na morfologia, mesmo ambas sendo pertencentes a uma família estenopalinológica.

3.3.2 Morfometria:

Tabela 3 – Dados morfométricos para os três tratamentos polínicos: DP: diâmetro polar; DE: diâmetro equatorial; DP/DE: divisão das médias para determinar o formato do grão; FV: faixa de variação; IC: intervalo de confiança (95%); $\bar{X}$: Média. Medidas em micrômetro.

<i>Dichorisandra thyrsiflora</i>								
Tratamento	Diâmetro Polar			Diâmetro Equatorial			DP/DE	Formato
	FV	$\bar{x}$	IC	FV	$\bar{x}$	IC		
Wodehouse	24,0 - 29,1	26,6	25,9 - 27,3	13,5 - 18,6	15,8	15,2 - 16,4	1,68	Prolato
Hidróxido	36,0 - 42,0	39	38,4 - 39,6	20,1 - 26,1	23,2	22,4 - 23,8	1,68	Prolato
Acetólise	35,1 - 51,0	42,6	40,8 - 44,5	17,1 - 27,0	22,3	21,2 - 23,5	1,91	Prolato

3.3.3 Fotomicrografias:

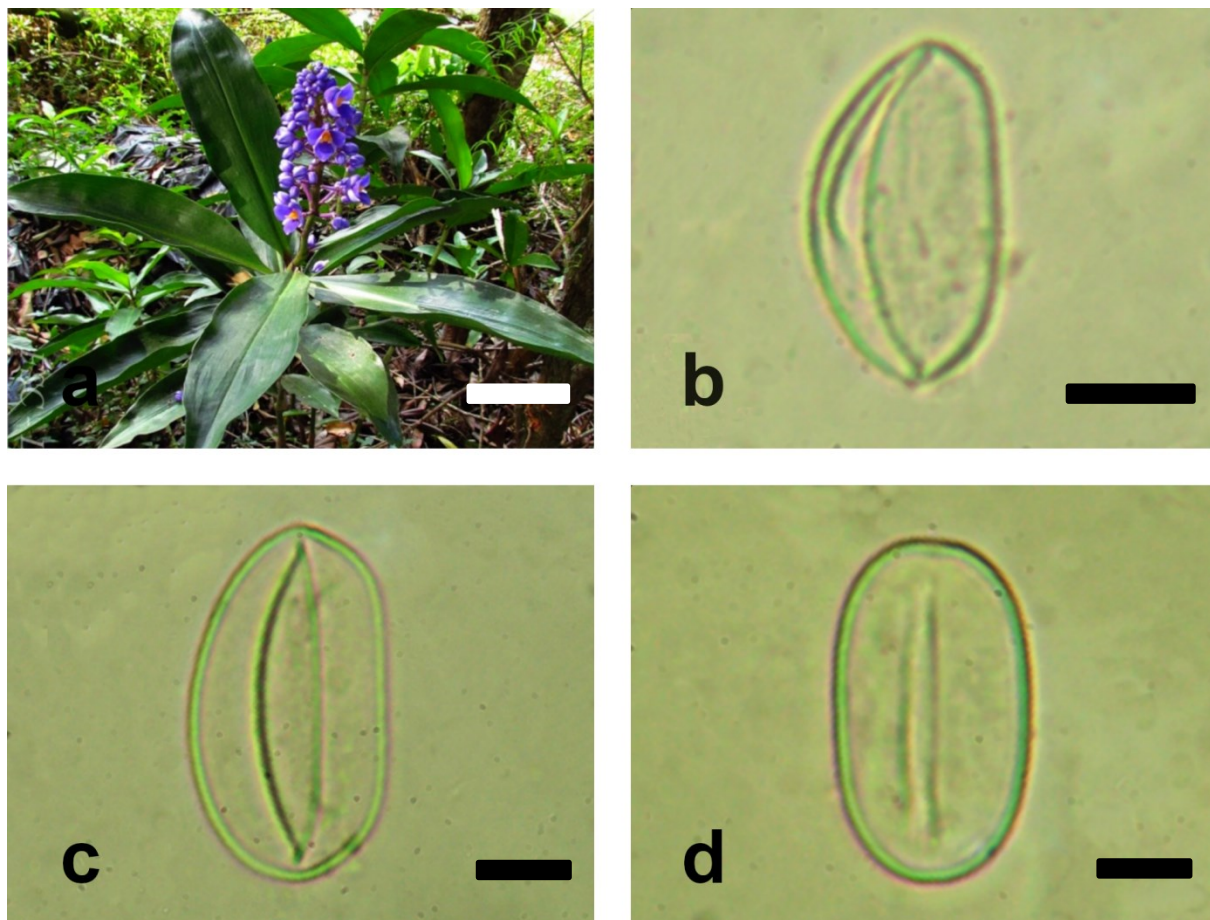


Figura 9. a - Fotografia de *Dichorisandra thyrsiflora*. Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies estudadas. b-d. *Dichorisandra thyrsiflora*. b- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento de Wodehouse. c- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento acetolítico. d- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento de Hidróxido de sódio. Barra de escala: a = 10 cm. b-d = 10 μ m.

3.3.4 Estatística comparativa:

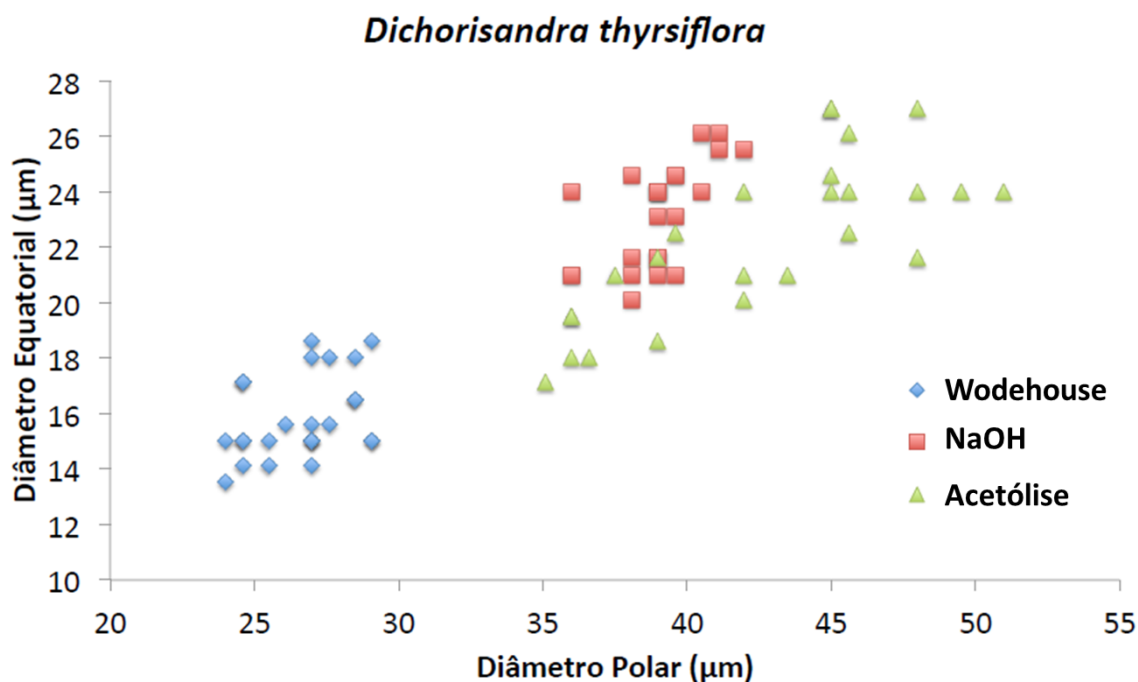


Figura 10: Gráfico de dispersão com duas variáveis quantitativas

Observando a figura 10, podemos perceber que o tratamento de Wodehouse se diferenciou dos demais tratamentos considerando as duas variáveis, assim podemos afirmar que os dois tratamentos químicos foram prejudiciais em manter a dimensão original do pólen confrontado ao padrão. Tanto à acetólise quanto o hidróxido proporcionaram um aumento de tamanho do palinomorfo em ambos os sentidos (DP, DE), porém os três tratamentos possuem certa linearidade positiva, assim se mantendo fiel quanto ao formato do grão (Prolato) que é determinada pela divisão do tamanho do DP pelo DE.

As figuras 11 e 12 mostram a simetria dos tratamentos, onde tanto para o diâmetro polar quanto para o diâmetro equatorial os dois tratamentos químicos não demonstraram nenhuma simetria com o método adotado como base, exceto a acetólise para o DE que se observou uma pequena simetria com Wodehouse se considerarmos a faixa de variação máximo/mínimo.

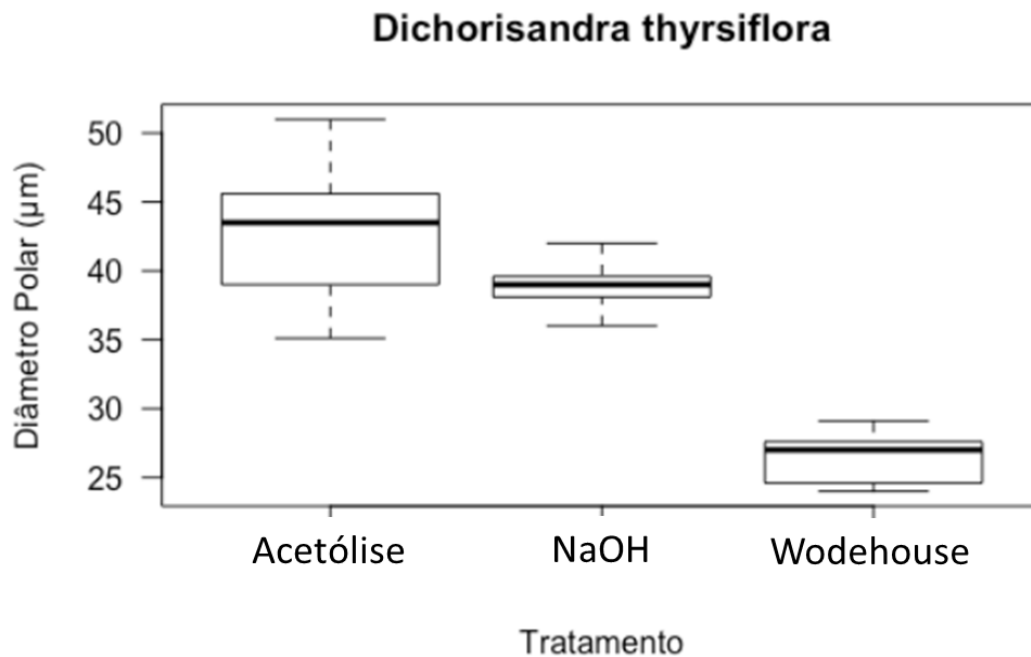


Figura 11: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis.

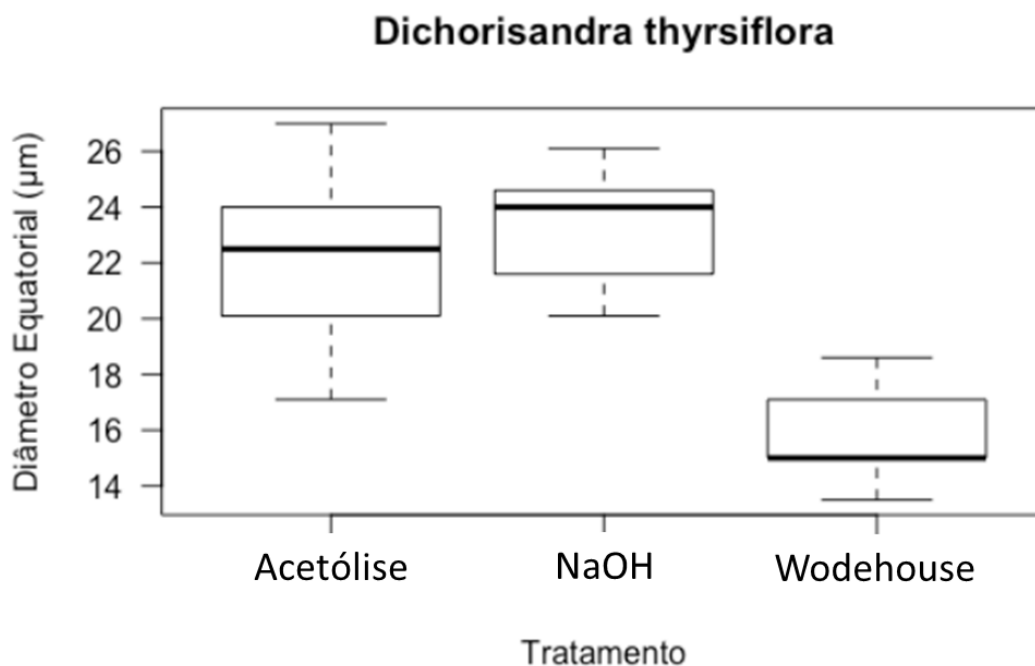


Figura 12: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis.

Considerando toda essa representatividade gráfica, observamos ao final que para *Dichorisandra thyrsoiflora* os métodos de acetólise e hidróxido foram equivalentemente desfavoráveis para a dimensão do grão, contudo o tratamento com NaOH se mostrou mais próximo ao padrão e também mais correlacionado intraespecificamente, assim dando uma maior confiança para este método, comparado ao da acetólise.

3.4 *Justicia nodicaulis* (Nees) Leonard (Acanthaceae)

Localidade: Brasil, Estado de Minas Gerais, município de Ituiutaba, Parque Municipal do Goiabal. **Habitat:** Cerradão. **Observações:** Subarbusto de 0,6-1,2 m de altura, flor rosa magenta, frutos e brácteas verdes. **Coletor:** Amaral, J.V.M, 2018.

3.4.1. Morfologia polínica:

Grãos de pólen em mônades, grande, simetria radial, polar, forma prolato, 2-colporados com duas fileiras de aréolas margeando os cólporos, exina reticulada.

Segundo McDade & Moody (1999) a tribo Justicieae, a qual pertence o gênero *Justicia* L., é monofilética, tendo como principal sinapomorfia o grão de pólen tricolporado hexapseudocolpado [9]. Esta possui quatro tipos polínicos *sensu* Lindau⁷ (1895) [9], onde o grão da espécie apresentada se encaixa na classe *Knötchenpollen* (Tradução: Pólen de nódulos), que tem por definição palinomorfos 2-3-colporados e 4-6-sincolpados com até quatro fileiras de aréolas margeando os cólporos.

3.4.2 Morfometria:

Tabela 4 – Dados morfométricos para os três tratamentos polínicos: DP: diâmetro polar; DE: diâmetro equatorial; DP/DE: divisão das médias para determinar o formato do grão; FV: faixa de variação; IC: intervalo de confiança (95%); $\bar{X}$: Média. Medidas em micrômetro.

<i>Justicia nodicaulis</i>								
Tratamento	Diâmetro Polar			Diâmetro Equatorial			DP/DE	Formato
	FV	$\bar{x}$	IC	FV	$\bar{x}$	IC		
Wodehouse	61,5 - 72,0	66,1	65,1 - 67,0	33,0 - 40,5	36,7	35,8 - 37,5	1,80	Prolato
Hidróxido	60,0 - 75,0	65,8	64,6 - 67,1	36,0 - 43,5	38,9	38,1 - 39,6	1,69	Prolato
Acetólise	66,0 - 75,6	69,2	68,2 - 70,2	39,0 - 45,6	43,4	42,7 - 44	1,60	Prolato

⁷ Lindau G. Acanthaceae. In: A.H.G. Engler & K.A.E. Prantl (eds.). Die natürlichen Pflanzenfamilien. Engelmann, Leipzig, v.4(3b), pp. 274-354, 1895 apud [9]

3.4.3 Fotomicrografias:

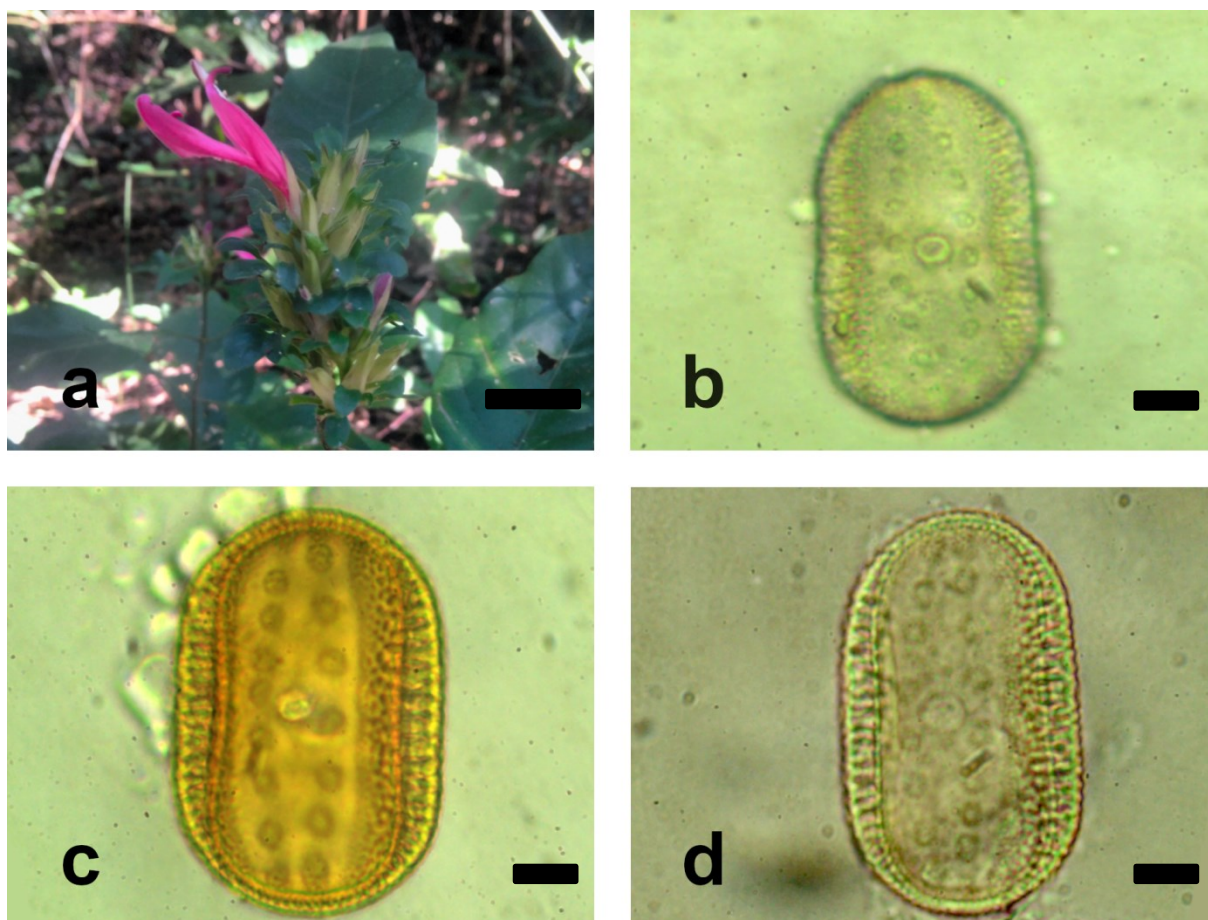


Figura 13. a - Fotografia de *Justicia nodicaulis*. Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies estudadas. b-d. *Justicia nodicaulis*. b- Vista equatorial, detalhe de superfície, Tratamento de Wodehouse. c- Vista equatorial, detalhe de superfície, Tratamento acetolítico. d- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento de Hidróxido de sódio. Barra de escala: a = 4 cm. b-d = 10 μ m.

3.4.4 Estatística comparativa:

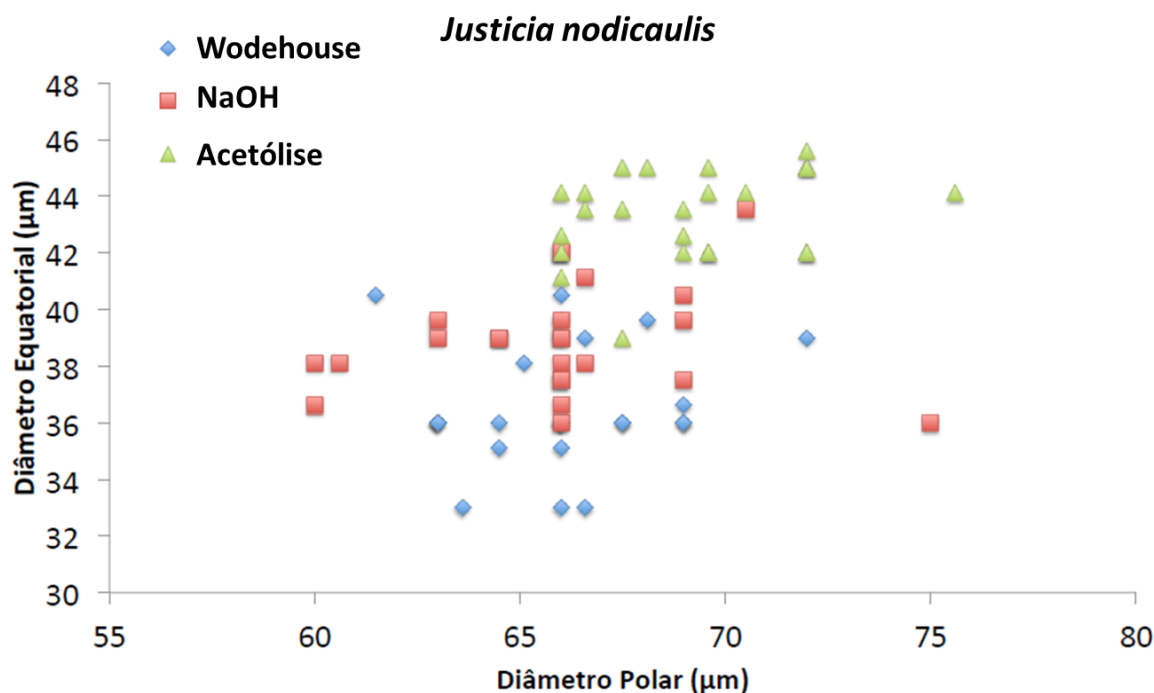


Figura 14: Gráfico de dispersão com duas variáveis quantitativas

Na Figura 14, podemos ver que os grãos tratados com os três métodos estão bem dispersos entre si, sendo que o diâmetro equatorial teve uma variação mais alta que o diâmetro polar. O método acetolítico é o que mais se distingue, sendo que o DE se expandiu mais do que os demais tratamentos e também é o que possui uma maior correlação intraespecífica. Mesmo o gráfico não apresentando uma linearidade positiva clara, a relação DP/DE não se alterou de maneira que influenciasse na forma do grão, isso pode ser observado na Tabela 3.

A Figura 15 mostra as linhas da mediana de Hidróxido e Wodehouse bem equiparadas, indicando uma alta simetria para o diâmetro polar entre estes dois métodos. O tratamento acetolítico também teve pequeno grau de simetria com Wodehouse, porém menor que o alternativo.

Para o diâmetro equatorial (Figura 16) mesmo a linha da mediana não se equiparando, a simetria entre NaOH e Wodehouse foi bem maior que a simetria entre acetólise e Wodehouse.

Justicia nodicaulis

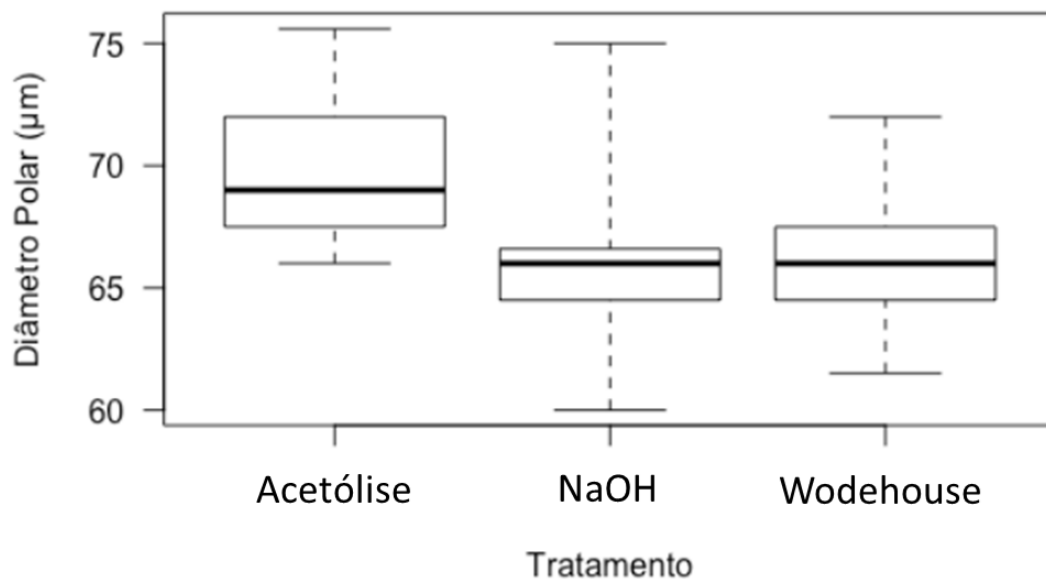


Figura 15: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis.

Justicia nodicaulis

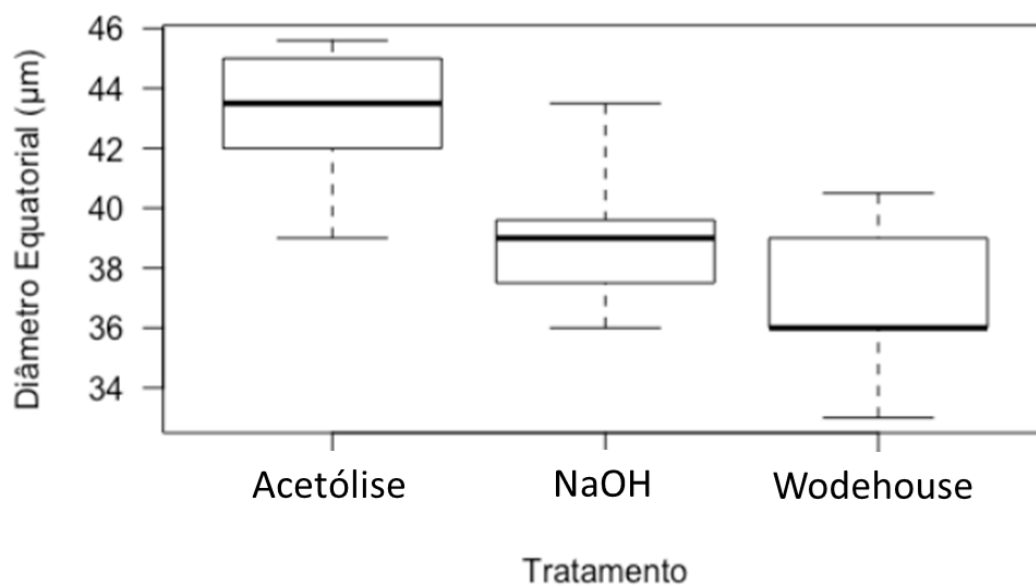


Figura 16: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis.

Com a observação dos gráficos em conjunto podemos reconhecer que o tratamento químico mais indicado para *Justicia nodicaulis* é o hidróxido de sódio, pois este mostrou estatisticamente ser menos ofensivo a dimensão do grão.

3.5 *Musa ornata* Roxb. (Musaceae)

Localidade: Brasil, Estado de São Paulo, Município de Orlândia, Parque Municipal Cyro Armando Catta Preta. **Habitat:** Cerradão. **Observações:** Arbusto, 3 m, brácteas rosadas, flor amarelo ocre. **Coletor:** Amaral, J.V.M., 2018.

3.5.1. Morfologia: polínica

Grãos de pólen em mônades, grande, simetria radial, apolar, âmbito circular, forma subprolato, inaperturado, exina psilada.

Comparando com *Musa velutina* [19] a morfologia muda pouca coisa para *Musa ornata*, pois as duas espécies apresentam grãos em mônades, exina psilada, inaperturado, porém *M. velutina* apresenta forma esferoidal diferentemente de *M. ornata* que possui forma subprolata.

3.5.2 Morfometria:

Tabela 4 – Dados morfométricos para os três tratamentos polínicos: DP: diâmetro polar; DE: diâmetro equatorial; DP/DE: divisão das médias para determinar o formato do grão; FV: faixa de variação; IC: intervalo de confiança (95%); $\bar{X}$: Média. Medidas em micrômetro

<i>Musa ornata</i>								
Tratamento	Diâmetro Polar			Diâmetro Equatorial			DP/DE	Formato
	FV	$\bar{x}$	IC	FV	$\bar{x}$	IC		
Wodehouse	87,0 - 105,0	97,3	94,8 - 100,0	75,0 - 96,0	81,5	79,2 - 83,8	1,19	Subprolato
Hidróxido	81,0 - 111,0	97,0	94,4 - 100,4	78,0 - 108,0	94,3	91,3 - 97,2	1,03	Prolato esferoidal
Acetólise	84,0 - 105,0	95,0	92,6 - 97,4	69,0 - 96,0	83,0	80,0 - 86,0	1,14	Prolato esferoidal

3.5.3 Fotomicrografias:

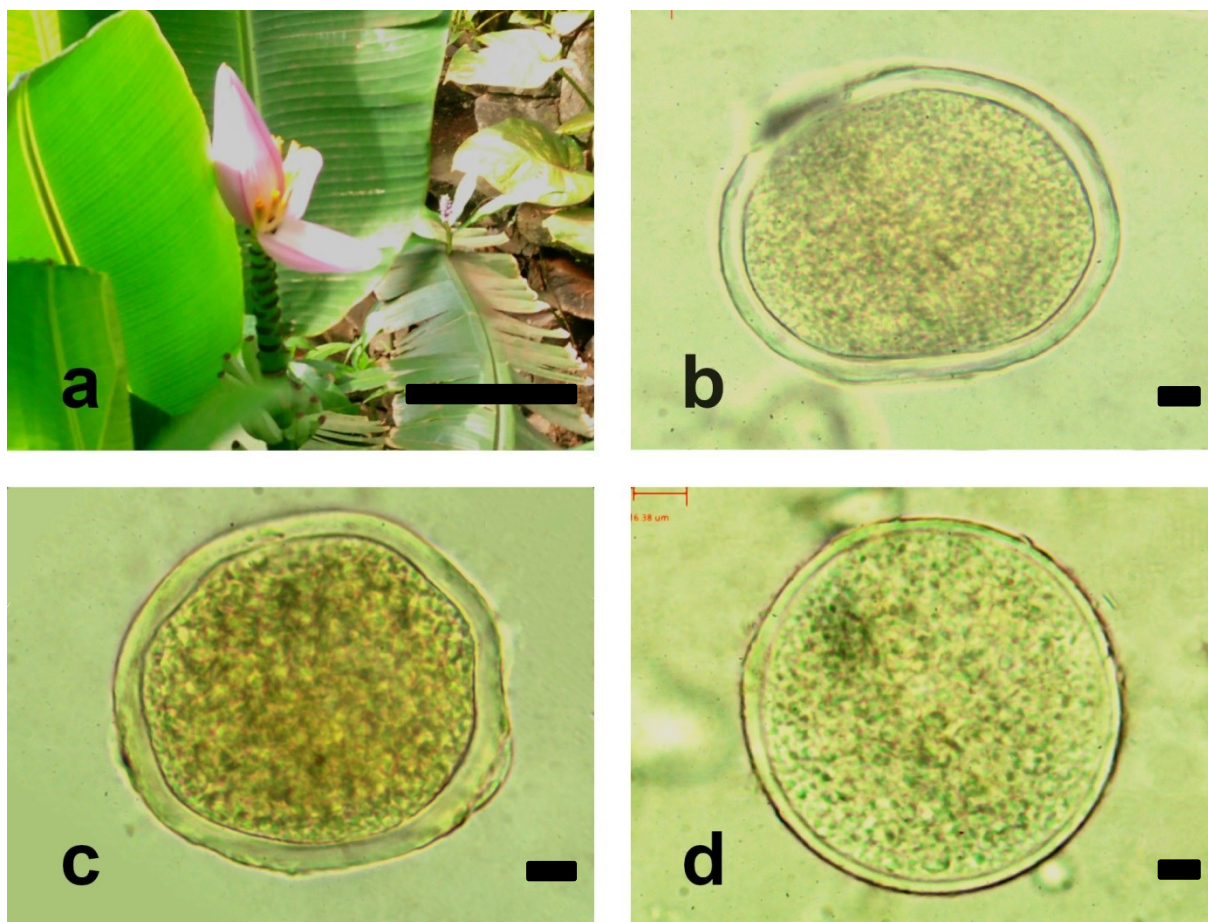


Figura 17. a - Fotografia de *Musa ornata*. Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies estudadas. b-d. *Musa ornata*. b- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento de Wodehouse. c- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento acetolítico. d- Vista equatorial, corte óptico, Tratamento de Hidróxido de sódio. Barra de escala: a = 10 cm. b-d = 10 µm.

3.5.4 Estatística comparativa:

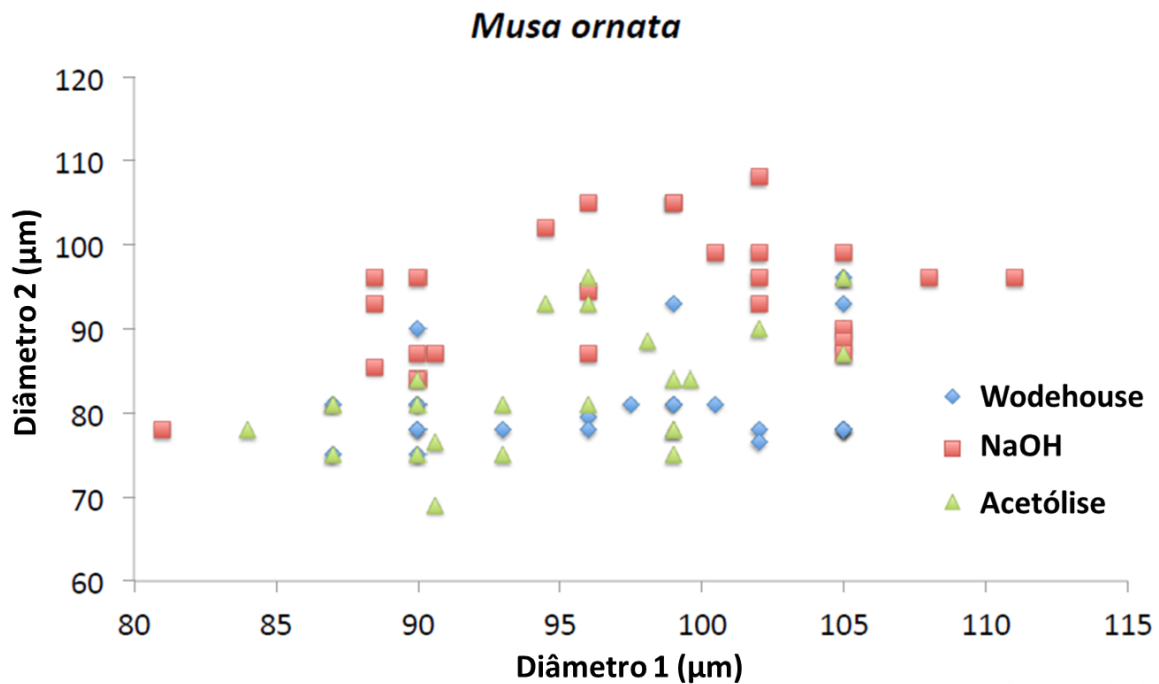


Figura 18: Gráfico de dispersão com duas variáveis quantitativas

O gráfico de dispersão para *Musa ornata* (Figura 18) foi o mais esperso de todas as espécies analisadas neste estudo, onde os três métodos teve dispersões aleatórias não tendo nenhuma correlação entre seus exemplares e nem uma linearidade na distribuição, variando muito tanto no diâmetro 1 quanto no 2. Assim, com exceção do método padrão os outros dois tratamentos modificaram o formato do grão.

Porém como podemos observar no gráfico de caixas na Figura 19, que analisa a simetria para o D1, o tratamento alternativo de hidróxido teve sua mediana equiparada com a do tratamento de Wodehouse sendo o tratamento com maior simetria com o padrão.

Para o D2, Figura 20, a simetria foi mais bem apresentada entre o tratamento acetolítico e de Wodehouse, com suas medianas não equiparadas, mas bem próximas.

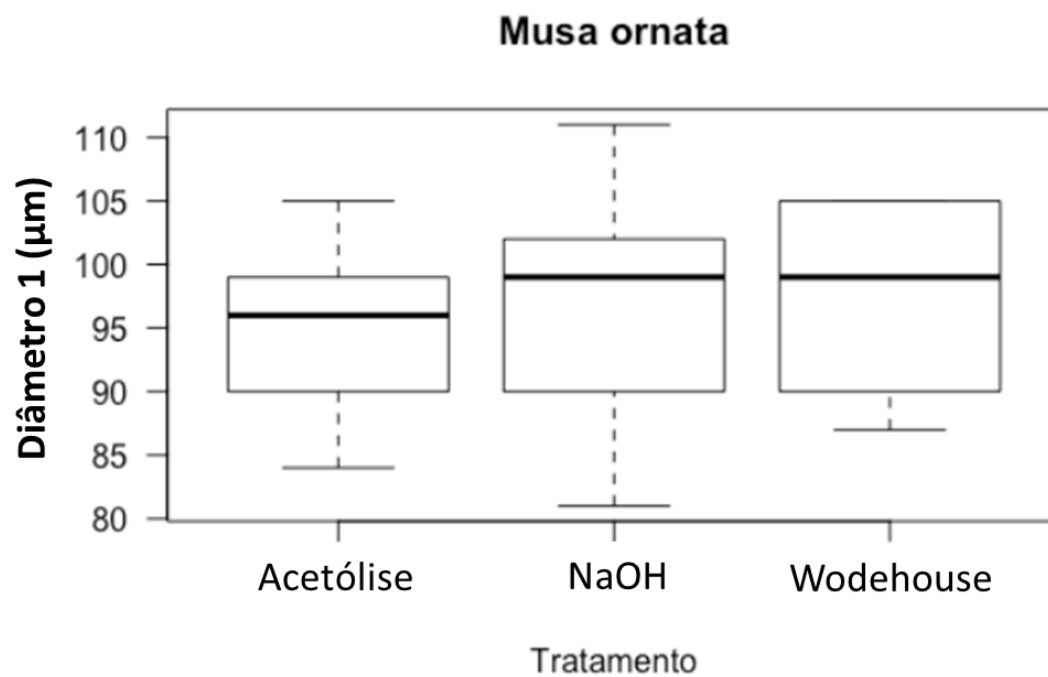


Figura 19: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis.

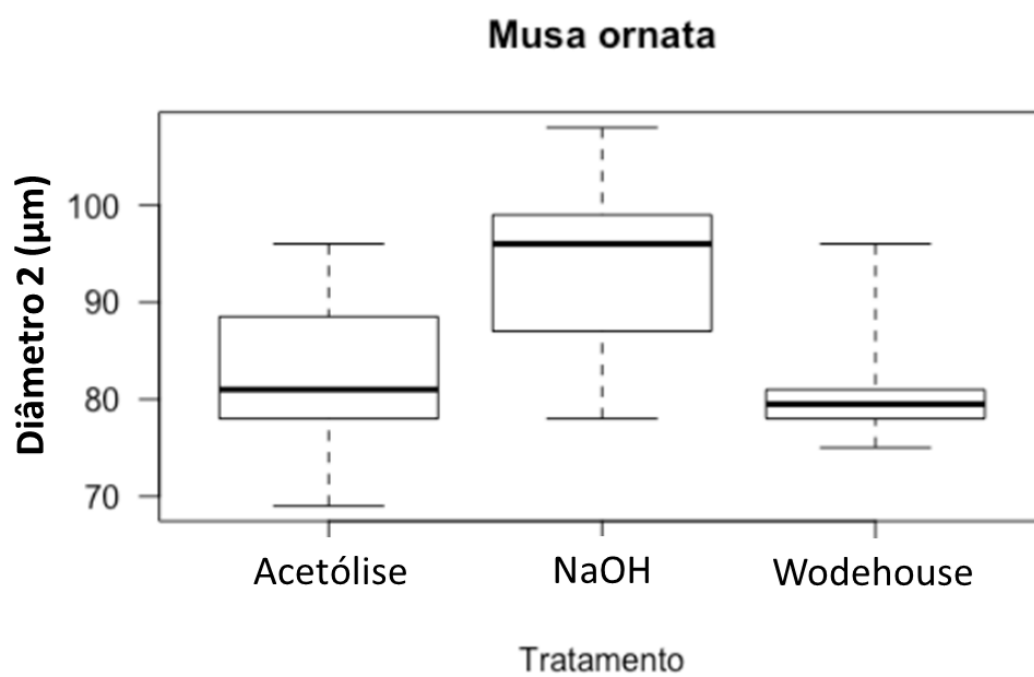


Figura 20: Diagrama de caixa (box-plot) para o teste de Kruskal-Wallis.

Deste modo, com o conjunto das análises, podemos reconhecer que para *Musa ornata* os três tratamentos tiveram comportamentos diferentes, sendo cada método químico melhor para um diâmetro específico, mostrando que este grão pode ter diferenças em suas paredes que podem levar a resultados distintos de acordo com o tratamento utilizado.

4 CONCLUSÃO

Com o presente estudo podemos concluir que as cinco espécies analisadas apresentaram diferentes comportamentos diante dos tratamentos realizados, sendo que para três delas (*Aphelandra longiflora*; *Dichorisandra thyrsiflora* e *Justicia nodicaulis*) o método alternativo (Hidróxido de Sódio) se mostrou mais adequado para a não alteração do tamanho do grão. Para a espécie *Commelina erecta*, o tratamento acetolítico foi o mais apropriado para a não modificação das dimensões do pólen. Em *Musa ornata*, os dois tratamentos químicos foram prejudiciais para o tamanho do palinomorfo, onde ambos alteraram até o formato do grão, entretanto, para a morfologia da exina o método acetolítico manteve melhor a aparência original da ornamentação. Com isso, a manutenção da forma original do grão de pólen não só depende do tratamento aplicado, mas também da resistência específica da exina de cada espécie.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Absy ML, Costa MR. Morfologia polínica de oito espécies das famílias acanthaceae e amaranthaceae ocorrentes na reserva florestal adolpho ducque. Manaus – Amazonas. 2013.
2. Antonio MAGM, et. al. Análise do perfil de crescimento de 566 crianças com idade entre 3 meses e 3 anos matriculadas nas 14 creches municipais de Paulínia (SP). J Pediatría (Rio de Janeiro), v. 72, p. 245-50, 1996.
3. Aona LYS, Amaral MCE. *Commelina* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB16912>>. Acesso em: 24 Jun. 2018
4. Aona LYS. Revisão taxonômica e análise cladística do gênero *Dichorisandra* JC Mikan (Commelinaceae). 2008. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
5. APG IV. The Linnean Society of London, Botanical Journal of the Linnean Society, 2016, 181, 1–20.
6. Barreto RC, et. Al.. Commelinaceae. Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. Instituto de Botânica, São Paulo, 2005, vol. 4, pp: 195-210.
7. Barth OM. Glossário palinológico: parte complementar ao "Catálogo sistemático dos pólen das plantas arbóreas do Brasil Meridional". Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 63, p. 133-161, 1965.
8. Barth OM. O pólen no mel brasileiro. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro: Gráfica Luxor, 1989. 150 p.
9. Côrtes AL, Rapini A. Justiceiae (Acanthaceae) do Semiárido do Estado da Bahia, Brasil. Hoehnea 40: 253–292. 2013.
10. Cruz-barros MAV et al. Palinotaxonomia das Acanthaceae das regiões Sul e Sudeste do Brasil. 1994. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
11. Cruz-barros MAV et al. Pollinic Flora of "Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga" (São Paulo, Brazil): Family: 136-Solanaceae. Hoehnea 38(4): 661-685, 95 fig., 2011
12. Elbl PM. Estudos em Commelinaceae (Monocotiledôneas): o papel da endoderme e do periciclo na formação do corpo primário. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
13. Erdtman G, Sorsa P. Pollen morphology and plant taxonomy: An introduction to palynology. Almqvist & Wiksell, 1952.
14. Evaldt ACP, Bauermann SG, Fuchs SCB. Grãos de pólen e esporos do Vale do Rio Caí, nordeste do Rio Grande do Sul, Brasil: descrições morfológicas e implicações paleoecológicas Gaea-Journal of Geoscience, v. 5, n. 2, p. 86-106, 2009.
15. Evaldt ACP, Radaeski JN, Bauermann SG.. Grãos de pólen de espécies ocorrentes na Unidade de Conservação Parque Estadual do Espinilho, barra do Quaraí, Rio Grande do Sul, Brasil. PESQUISAS, BOTÂNICA Nº 65:305-332 São Leopoldo: Instituto Anchietano de Pesquisas, 2014.
16. Faden RB, Hunt DR. The classification of the Commelinaceae. Taxon 40:19-31, 1991 .
17. Fritzsche KJ. Ueber den pollen. Acad. St. Petersburg, 1837.
18. Gonçalves EG, lorenzi H. Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2011.
19. Halbritter H, Buchner R, *Musa velutina*. In: PalDat (2016-11-18) - a palynological database. Published on the Internet https://www.paldat.org/pub/Musa_velutina/302323[accessed 2018-06-24]
20. Hyde HA, Williams DA. Palynology. Nature, 1945. Pg 155-264.
21. Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. Sistemática vegetal: um enfoque filogenético. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p.
22. Jurinitz CF, Baptista LRM. Monocotiledôneas terrícolas em um fragmento de Floresta Ombrófila Densa no litoral norte do Rio Grande do Sul. Brazilian Journal of Biosciences. Porto Alegre. Vol. 5, n. 1 (jan./mar. 2007), p. 9-17, 2007.
23. Labouriau MLS. Contribuição à palinologia dos cerrados. Rio de Janeiro: Academia brasileira de ciências, 1973. 291 p.
24. McDade LA, Moody ML. Phylogenetic relationships among Acanthaceae: evidence from noncoding *trnL-trnF* chloroplast DNA sequences. American Journal of Botany 86: 70-80, 1999.

25. Melo LNT. Aspectos da biologia floral, sucesso reprodutivo e polinização de cinco espécies de marantaceae na Amazônia Central. 2014. Tese (Doutorado em Diversidade Biológica) – Programa de Pós-Graduação, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
26. Moreira BA, Cruz-barros MAV, Wanderley MGL. Morfologia polínica de algumas espécies dos gêneros *Neoregelia* LB Sm. e *Nidularium* Lem.(Bromeliaceae) do estado de São Paulo, Brasil. *Acta Bot Bras*, v. 19, p. 61-70, 2005.
27. Plá júnior MAP, Côrrea MVG, Canceli RR, Macedo RB, Bauermann SG. *Grãos de pólen: usos e aplicações*. Canoas: ULBRA, 2006.
28. Profice SR, Andreato RHP. Revisão taxonômica de *Aphelandra* R. Br.(Acanthaceae) de corola curto-bilabiada. São Leopoldo: Instituto Anchietano de Pesquisas, 2011, v. 62, 2011.
29. Punt W, Hoen PP, Blackmore S, Nilsson S, Le Thomas A. Glossary off pollen and spore terminology. Review of Palaeobotany and Palynology 143. 2007. 1-81.
30. Queiroz PF. GLOSSÁRIO DE TERMOS USADOS EM MORFOLOGIA POLÍNICA. *Terra Scenica – Território Antigo* 36, 2012.
31. Raven, P.H.; Evert, R.F; Eichhorn, S.E. *Biologia Vegetal*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2007. 830 p.
32. Scotland RW, Vollensen K. Classification of Acanthaceae. *Kew Bull.* 55: 513-589, 2000.
33. Silva CI, Ballesteros PLO, Palmero MA, Bauermann SG, Evalt ACP, Oliveira PE . Catálogo polínico: palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero *Xylocopa* no triângulo Mineiro. Uberlândia: EDUFU, 2010. 154 p.
34. Silva CI. Catálogo polínico das plantas usadas por abelhas no campus da USP de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto: Holos, 2014. 153 p.
35. Souza VC, Lorenzi H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil baseado em APG III. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.
36. Souza SAM, Martins KC, Pereira TNS. POLLINIC PREPARATION FOR MORPHO-PALYNOLOGICAL STUDIES OF *Passiflora* L. SUBG. *Passiflora* L. (PASSIFLORACEAE). *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 31, n. 4, p. 1200-1204, July/Aug. 2015.
37. Takeda IJM, Farago PV, Souza MKF, Gelinski VV. Catálogo polínico do Parque Estadual de Vila Velha, Paraná-2ª. Parte. *Biological and Health Sciences*, 7 (1): 7-18, 2001.
38. Vilar TS. Acanthaceae Juss. no Distrito Federal, Brasil. 2009. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília.
39. Wodehouse RP. Pollen Grains: Their Structure, Identification and Signification in Science and Medicine. New York: Mcgraw-Hill Book Company, 574p. 1935.
40. Zetzsche F. Kork und cuticularsubstanzen. *Handbuch der Pflanzen-analyse*, v. 3, p. 205-215, 1932.



Scientia Plena

6. Anexo 1

Obs: Ativar comentários.

Título do trabalho

Title in english

X. X. Sobrenome^{1*}; X. X. Sobrenome²

¹Nome do Departamento/Laboratório/Setor, Nome da Instituição, CEP, Cidade-Estado, País

¹Nome do Departamento/Laboratório/Setor, Nome da Instituição, CEP, Cidade-Estado, País

*emaildoautorcorrespondente@xxxx.xxx

(Recebido em dia de mes de ano; aceito em dia de mes de ano)

O resumo deve ser inserido aqui e não pode ultrapassar 250 palavras.

Palavras-chave: palavra-chave 1, palavra-chave 2, palavra-chave 3

Insert the abstract here.

Keywords: keyword 1, keyword 2, keyword 3

1. INTRODUÇÃO

Na seção de Introdução do artigo, o autor deve descrever o estado-da-arte do problema, além de justificar e apresentar os objetivos do seu trabalho.

Neste modelo, que está formatado seguindo o modelo adotado pela revista, aproveitaremos esta seção para apresentar algumas informações sobre a submissão de artigos à **Scientia Plena**.

A **Scientia Plena** é uma publicação científica mensal e aceita manuscritos originais e inéditos, redigidos em português, inglês ou espanhol. Artigos de revisão não são aceitos para publicação.

Trabalhos que utilizaram seres humanos como objeto de estudo ou experimentação animal devem indicar no texto o número da aprovação pelos respectivos Comitês de Ética.

O trabalho não deverá estar sendo avaliado simultaneamente por outra revista e todos os autores devem estar cientes da submissão.

O trabalho deve ser submetido pelo sistema eletrônico da revista em formato “.doc”, com tabelas e figuras incluídas no corpo do texto. Todo o corpo do texto deve ser redigido em Times New Roman, tamanho 11, justificado e com espaçamento simples. As margens das páginas devem ser de 2,5 cm (superior e inferior) e 3,0 cm (esquerda e direita). Todos os parágrafos devem apresentar tabulação de 0,5 cm e as tabelas e figuras devem ser citadas por extenso no corpo do texto (ex: Figura 1; Tabela 1). Ao longo do texto deve ser utilizado o sistema internacional de unidades (SI) para indicação de medidas.

Para citação das referências, utilizar o Estilo Vancouver, com a numeração entre colchetes e alinhada ao texto. Exemplos: “... para determinados valores [1]...”; “...Segundo Meneton et al.

(2005) [2]...”; “...estudos de raios de tórax [3]...”; “... o tamanho da amostra [4]...”; “... o uso de drogas para alívio da dor [5, 6]...”.

A lista de referências deve ser apresentada ao final do texto, em seção específica. Não usar notas de rodapé.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia deve ser descrita com as informações necessárias para permitir a repetição do estudo por outro pesquisador.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados e Discussão podem ser apresentados em conjunto ou em subtítulos separados.

Tabelas e figuras devem ser centralizadas, com legenda objetiva e autoexplicativa. Tabelas não devem apresentar linhas verticais secundárias. Devem-se evitar tabelas e/ou figuras com poucas informações, que podem ser facilmente substituídas por texto corrido.

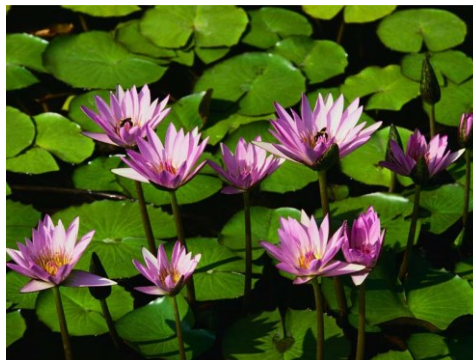


Figura 1: Legenda da figura

Tabela 1: Exemplo de modelo de tabela

Título	Título		
	Coluna 1	Coluna 2	Coluna 3
Linha 1	XXX	XXX	XXX
Linha 2	XXX	XXX	XXX
Linha 3	XXX	XXX	XXX
Linha 4	XXX	XXX	XXX

4. CONCLUSÃO

Uma conclusão deve ser apresentada com as principais contribuições do estudo.

5. AGRADECIMENTOS

Apresentar os agradecimentos pertinentes, se houver.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, Chiu V. Blood pressure levels before dementia. Arch Neurol. 2005 Jan;62(1):112-6, doi:10.1001/archneur.62.1.112.

2. Meneton P, Jeunemaitre X, de Wardener HE, MacGregor GA. Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases. *Physiol Rev.* 2005 Apr;85(2):679-715, doi: 10.1152/physrev.00056.2003
3. Jenkins PF. *Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide.* New York: Oxford University Press; 2005. 194 p.
4. Riffenburgh RH. *Statistics in medicine.* 2nd ed. Amsterdam (Netherlands): Elsevier Academic Press; 2006. Chapter 24, Regression and correlation methods; p. 447-86, doi: 10.1016/B978-0-12-384864-2.00025-1
5. Zhao C. *Development of nanoelectrospray and application to protein research and drug discovery [dissertation].* Buffalo (NY): State University of New York at Buffalo; 2005. 276 p.
6. Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, Brooks JW. Cannabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, editors. *Proceedings of the 10th World Congress on Pain; 2002 Aug 17-22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003.* p. 437-68.