

## ACETÓLISE DOS GRÃOS DE PÓLEN COLETADOS DE MARIPOSAS (LEPIDOPTERA: SPHINGIDAE) COMO FERRAMENTA PARA USO EM REDES DE INTERAÇÕES

JULIANA DE SOUZA CHAGAS<sup>1</sup>; ANDREZA DE ÁVILA LAUTENSCHLEGER<sup>2</sup>;  
JEFERSON VIZENTIN BUGONI<sup>3</sup>; CRISTIANO AGRA ISERHARD<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [julianaschagass@hotmail.com](mailto:julianaschagass@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [andrezaalauten@hotmail.com](mailto:andrezaalauten@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Estadual de Campinas – [jbugoni@yahoo.com.br](mailto:jbugoni@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [cristianoagra@yahoo.com.br](mailto:cristianoagra@yahoo.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

Mariposas da família Sphingidae (Lepidoptera) constituem um grupo taxonômico bastante diverso (ca. de 1.200 spp.) com ampla distribuição mundial (DE AVILA et al., 2010), sendo registradas 186 espécies para o Brasil. São organismos fundamentais na polinização de plantas tropicais, prestando inestimáveis serviços ambientais, oferecendo subsídios importantes para estudos ecológicos (MATOS et al., 2012).

Esfingídeos são caracterizados por sua grande capacidade de voo e espirotromba longa. Essas características possibilitam a polinização de flores muito específicas, com órgãos reprodutores longos, que limitam o acesso a outros animais. Plantas polinizadas por esfingídeos, normalmente, apresentam uma série de características: antese floral noturna, coloração branca, corola profunda, base larga, e forte odor indicando grande quantidade de néctar (JÚNIOR et al., 2006).

A polinização é uma das mais importantes interações ecológicas em nível de comunidade. Ela não só conecta mais de um milhão de organismos, mas também garante a sobrevivência das angiospermas e de grande parte dos insetos (RECH et. al 2014). Atualmente, muita atenção tem sido dada nas relações mutualísticas polinizador-planta através do uso de redes de interações que fornecem um panorama mais amplo sobre a estruturação de comunidades.

A acetólise é uma técnica que consiste na mistura de três ácidos (sulfúrico, láctico e anidrido acético) que quando aquecidos reagem na quebra dos grãos de pólen, proporcionando assim uma melhor observação e identificação do pólen. Neste sentido, o uso desta técnica pode contribuir sobremaneira em estudos palinológicos, que são desenvolvidos visando a caracterização de grãos de pólen de diferente espécies. Tais estudos baseiam-se principalmente nas características morfológicas (tamanho, forma, aberturas e ornamentação) e a comparação destas com outros grãos de pólen (JÚNIOR et al., 2006). Desta forma, um dos mais importantes atributos que tornam os grãos de pólen adequados para estudos taxonômicos e sistemáticos está no fato de variarem em sua forma (BLACKMORE, 2007).

O Laboratório de Ecologia de Lepidoptera (Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética da UFPel) está desenvolvendo um projeto que pretende descrever, através de observações focais, a rede de interações esfingídeo-planta em uma área de Pampa. Associar as observações focais com os pólenes aderidos

a probóscide e ao corpo das mariposas é importante para aumentar a abrangência desta rede e permitir uma análise mais refinada das suas interações.

Este trabalho tem como objetivo realizar um estudo palinológico dos grãos de pólen encontrados em esfingídeos coletados no estudo acima citado. Desta forma, será possível caracterizar a morfologia destes grãos através da técnica de acetólise, verificando a provável existência de pólenes de espécies que não estão contempladas na rede de interação.

## 2. METODOLOGIA

Foram realizadas saídas de campo no município do Capão do Leão nas proximidades da UFPel entre novembro de 2015 e junho de 2016 objetivando descrever a rede de interações esfingídeo-planta desta região. Tanto as mariposas quanto as plantas polinizadas foram coletadas em campo.

Para a análise de grãos de pólen foi empregada a técnica de acetólise (Aclac) (Tabela 1), realizada em uma Capela de Fluxo, descrita a seguir: com uma pipeta graduada é colocado o anidrido acético em um Becker, e após os ácidos sulfúrico e lático que devem ser lentamente misturados. Com uma alça de platina é coletado pólen da probóscide e do corpo das mariposas. Em seguida coloca-se o pólen coletado em uma lâmina, acrescentando uma ou mais gotas da solução de acetólise. A lâmina deve ser aquecida por três minutos, para que o processo de quebra dos grãos de pólen tenha início. Após este procedimento, observa-se no microscópio se o conteúdo polínico saiu do grão de pólen. Caso este processo não tenha ocorrido, a lâmina deve ser aquecida por mais tempo. Ao término desta parte, são colocadas uma gota de álcool e uma gota d'água morna, que posteriormente tem o excesso retirado com um papel absorvente. A finalização do processo de acetólise se dá com a colocação de gelatina glicerizada para fixação e conservação do material e uma lamínula. A gelatina glicerizada foi preparada com folhas de gelatina sem sabor, nas medidas de uma folha para cada 100 mL de água quente e 100 mL de glicerina.

Foram realizados três métodos para extração e avaliação da retirada dos grãos de pólen. Método 1: coleta dos grãos com alça de platina direto das mariposas; Método 2: retirada da probóscide das mariposas para imersão na solução; Método 3: coleta de pólen dos envelopes entomológicos nos quais as mariposas foram armazenadas após a coleta.

Tabela 1: Protocolo Aclac de acetólise utilizado para a coleta de grãos de pólen das mariposas coletadas no município do Capão do Leão, Rio Grande do Sul, entre novembro de 2015 e junho de 2016.

ACLAC	40	60
Anidrido acético	5,0 (1,25 ml)	3,0 (0,75 ml)
Ácido sulfúrico	1,0 (0,25 ml)	1,0 (0,25 ml)
Ácido lático	4,0 (1,0 ml)	6,0 (1,5 ml)

Legenda: Pólenes frágeis: Aclac 40 e pólenes fortes: Aclac 60.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas 187,5 horas de esforço amostral em campo, sendo registradas 12 espécies de Sphingidae polinizando sete espécies de plantas, além do registro de 17 espécies de plantas potencialmente polinizadas por essas mariposas. Em relação a rede de interações foram registradas 39 interações de esfingídeos-planta e 21 links (interação entre uma espécie de planta com uma espécie de animal).

Até o momento foram realizadas 09 extrações de grãos de pólen, sendo 03 referentes ao Método 1, 03 ao Método 2 e 03 ao Método 3. Os resultados desta parte não mostraram, até o momento, nenhum grão de pólen nas lâminas preparadas pelo método da acetólise. A falta de pólen em todos os métodos avaliados pode ter ocorrido pelo manuseio prévio dos exemplares de mariposas, pois estas foram coletadas, medidas, montadas e identificadas e somente após foi realizada a procura por pólen.

Pretendemos refazer a coleta de pólen tanto das flores polinizadas pelas mariposas quanto do exemplar de esfingídeo logo após sua captura e no momento das medições das suas probóscides. De posse de tais informações pode-se comparar os grãos encontrados nos esfingídeos com os de suas flores visitadas, e assim observar a existência ou não de espécies que ainda não estão incluídas nesta rede de interações.

### 4. CONCLUSÕES

Apesar de não ter sido registrado pólen, as amostras da acetólise dos grãos foram realizadas com intuito de escolher um método diferente para complementar e melhor abranger a rede de interações entre os organismos estudados. Pretende-se continuar com esta técnica de extração, que tem como perspectiva a formação de uma Palinoteca dos pólenes coletados das mariposas, visando a formação de um banco de dados de pólenes da região de abrangência deste estudo.

### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLACKMORE, S. Pollen and spores: microscopic Keys to understanding the earth's biodiversity. **Plant Systematics and Evolution**.v.263.p.3-12. 2007.

CUDA, J. P., A. P. FERRITER, V. MANRIQUE, MEDAL, J.C. Brazilian Pepper tree Task Force Chair. Interagency Brazilian Peppertree (*Schinus terebinthifolius*) **Management Plan for Florida**. 2ed. 2006.

DE AVILA, Rubem Samuel Junior. et.al. Tipos polínicos encontrados em esfingídeos (Lepidoptera, Sphingidae) em área de Floresta Atlântica do Sudeste do Brasil: uso da palinologia no estudo de interações ecológicas. São Paulo: **Revista Brasil. Bot.**, v.33, n.3. 2010. 424p.

FREITAS, Leandro. VIZENTIN-BUGONI, Jefersom. WOLOWSKI, Marina. SOUZA Jana Magaly Tesserolli. VARASSIN, Isabela Galarda. Interações planta-polinizador e a estruturação das comunidades. In: RECH, André Rodrigo. AGOSTINI, Kayna. OLIVEIRA, Paulo Eugênio. MACHADO, Isabel Cristina. (Org.). **Biologia da polinização**, 1 ed. Rio de Janeiro, 2014. Pág 373.

MATOS, Simone Jung. et al. Diversidade, similaridade e composição de espécies de Sphingidae em quatro áreas de Cerrado. Anais do IV Seminário de Pesquisa e Iniciação Científica do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Anais do IV Seminário de Pesquisa e Iniciação Científica do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade.**, v.1, p. 56-57. 2012.

RECH, André Rodrigo. WESTERKAMP, Christian. Biologia da polinização: uma síntese histórica. In: RECH, André Rodrigo. AGOSTINI, Kayna. OLIVEIRA, Paulo Eugênio. MACHADO, Isabel Cristina. (Org.). **Biologia da polinização**, 1 ed. Rio de Janeiro, 2014. Pág 24.