

# 2

# Fundamentos del análisis polínico (\*)

Por Francisco DEL BAÑO BREIS (\*)

## INTRODUCCION HISTORICA

En la *Filosofía Botánica* de LINNÉ (1) se dice: polen, «el polvillo contenido en la antera, el cual, arrojando sus átomos con ímpetu, fecunda la semilla mediante el humor que suda el estigma o remate del pistilo». Es, por tanto, término linneano, de etimología latina, pollen-inis, que significa «polvo muy fino» o «flor de la harina» y fue incorporado al español por CAVANILLES con el nombre de «polvillo fecundante».

Aunque desde el siglo XVII tenemos noticias del polen, se puede decir que hasta el siglo XIX no adquiere su estudio verdadera importancia; que comienza a adquirirla al conocerse los dibujos del polen de 180 plantas realizados por el inglés F. BAUER. Años más tarde, el histólogo PURKINJE describe la estructura de los sacos polínicos y del grano de polen, y el alemán FRITZSCHE establece y da nombre a las partes principales de que consta la cubierta del grano de polen: intina y exina. A finales del siglo XIX estos estudios alcanzan un gran desarrollo, sobre todo con la aportación de FISCHER que describe más de 2.000 tipos diferentes de polen según la variadísima morfología de la exina y los poros por donde emiten el tubo polínico durante la germinación. Nace, pues, la Palinología o tratado del polen y de las esporas, que en la actualidad ha adquirido un espectacular desarrollo (2), siendo cada vez más numerosos los investigadores médicos, geólogos, paleontólogos, químicos, etcétera, que trabajan en las diversas ramas de esta ciencia apoyada y servida por los avances tecnológicos, especialmente en la microscopía electrónica.

Bajo el punto de vista médico (3) el polen atrajo la atención desde que BOSTOCK descubre los síntomas de la «fiebre del heno» y revela su coincidencia con la floración de gramíneas y praderas, BLACKLEY confirma su causa alérgica y DUNBAR demuestra que se debe a la ingestión de polen por las vías respiratorias. Ello origina el nacimiento de la Aeropalinología que estudia el contenido esporopolínico del aire.

Los geólogos fueron los primeros que se sirvieron de la palinología al identificar el polen de turberas, glaciares y terrenos sedimentarios, realizando cálculos porcentuales y determinaciones cuantitativas del contenido polínico de los sedimentos que permiten a ERDTMAN desarrollar una metodología polínica adoptada universalmente para estudios sobre vegetación y clima del Cuaternario.

Investigando la naturaleza del polen adherido con el polvo a los restos de utensilios, armas y otros objetos prehistó-

ricos, encontrados en los yacimientos arqueológicos, los arqueólogos y paleontólogos han podido determinar la época en que vivieron aquellos antecesores nuestros, las condiciones que entonces ofrecía la comarca, si estaba poblada de bosques y otros problemas que tiene planteada la arqueología.

Finalmente, señalar que la enorme variedad de tipos polínicos y la fijeza de sus caracteres dentro de un mismo taxón convirtió pronto a la Palinología en un poderoso auxiliar de la Sistemática vegetal.

## EL GRANO DE POLEN. POLINIZACION

Una antera joven está constituida por un tejido celular homogéneo, en el cual se diferencian ciertas células subepidérmicas en filas longitudinales, destinadas a formar los sacos polínicos y los granos de polen. Cada fila originará un saco polínico y generalmente se establecen dos a cada lado del plano medio de la antera. Estas células crecen y se multiplican, de manera a originar un macizo alargado. Las células periféricas de este macizo forman la pared del saco, cuya capa más interna (tapete) es de células grandes, de protoplasma espeso y casi siempre de color amarillo, y está destinada a licuarse, esparciéndose su contenido entre los otros elementos del saco y sirviéndolo para la nutrición de las células madre del polen, por lo cual se llama capa nutricia.

Las células madre del polen son las centrales de aquel macizo; su membrana es espesa y por gelificación parcial pueden quedar aisladas unas de otras, si bien lo general es que permanezcan unidas. Cada una origina cuatro granos de polen. Para ello experimentan las dos divisiones sucesivas de reducción cromática (meiosis) al final de la cual las cuatro células resultantes serán de núcleo haploide, es decir, poseen sólo la mitad del número de cromosomas propio de la especie.

El análisis polínico, que examinaremos en el tercer apartado de este artículo, está fundamentado principalmente en el conocimiento morfológico del grano de polen que se realiza por observación microscópica de preparaciones adecuadas.

A este respecto, lo primero a considerar es el grano de polen como objeto tridimensional, que ocupa un volumen microscópico en el espacio y puede ser asimilado con mucha aproximación a una elipse de revolución (Fig. 1), en la que cabe señalar el eje polar (P) o eje de simetría que contiene al plano de simetría y el diámetro ecuatorial (E) que divide al grano en dos casquetes polares. Si el eje polar y el diámetro ecuatorial son iguales, el grano de polen adquiere la forma de una pequeñísima esfera, susceptible de modificación por expansiones y estiramientos que el grano puede sufrir por inhibición (hinchamiento), tratamientos químicos, fosilización, etcétera. Precisamente estas posibles y frecuentes modificaciones han obligado a los investigadores a normalizar las mediciones y las variadas formas y referirlas siempre a granos acetolizados, es decir, sometidos pre-

(\*) Este artículo es una sinopsis de nuestro trabajo experimental «ESTUDIO MORFOLOGICO, DIMENSIONAL Y ANALITICO DE POLEN DE FRUTALES DE LA REGION MURCIANA» que realizamos en el Laboratorio de Ciencias Naturales del I.N.B. «Vicente Medina».

(1) Diccionario de Botánica; Font Quer.

(2) Ello ha tenido como consecuencia que la gran cantidad de vocablos empleados en las publicaciones palinológicas haya creado una cierta confusión.

(3) El análisis químico del polen ha revelado la presencia de minerales constituidos por sodio, potasio, fósforo, calcio, etcétera; carbohidratos, como fructosa, sacarosa, almidón, celulosa, etcétera; lípidos y esteroides; aminoácidos, proteínas y vitaminas, por lo que puede considerarse como alimento. Hoy se fabrican tabletas de extractos de polen muy utilizadas por los atletas.

(\*) Catedrático de Ciencias Naturales del I.B. «Vicente Medina» de Archena (Murcia).

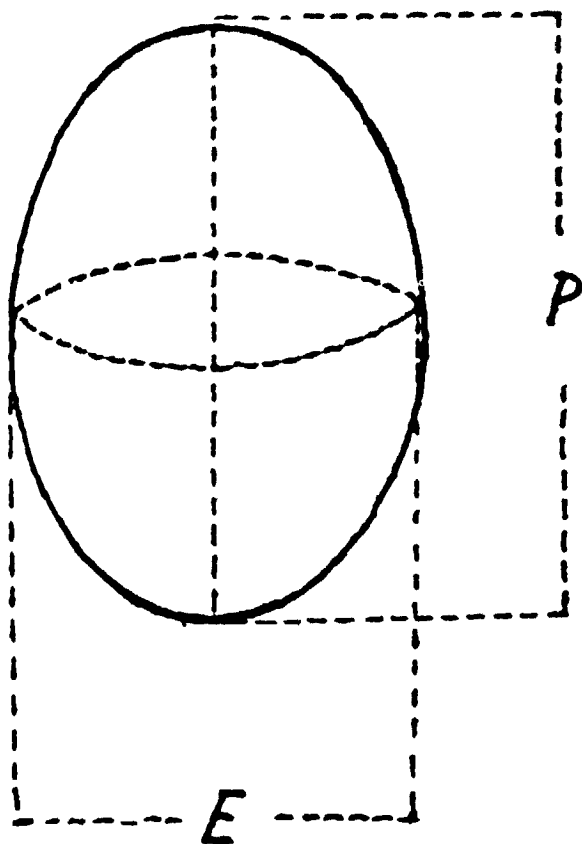


Fig. 1

viamente al tratamiento químico de la acetolisis, del que nos ocupamos más adelante.

En la Tabla 1 anotamos la clasificación de ERDTMAN de todas las formas posibles existentes y referidas a granos acetolizados.

TABLA 1

Valor relativo de (P) y (E)	Nombre del grano
$P/E = 1$	Esferoidal
$P/E = 2$	Perprolato
$P/E = 1,14 - 1,00$	Prolato esferoidal
$P/E = 1,14 - 1,33$	Subprolato
$P/E = 2 - 1,33$	Prolato
$P/E = 0,50$	Peroblato
$P/E = 1,00 - 0,88$	Oblato esferoidal
$P/E = 0,75 - 0,80$	Sub-oblato
$P/E = 0,75 - 0,50$	Oblato

El tamaño del polen es muy variado, oscila entre las 5 y las 250 micras (4), es un excelente carácter taxonómico como ya indicamos y está íntimamente ligado al número de cromosomas de la especie vegetal.

Como el polen se considera la micróscopara de los espermatófitos, la cubierta que lo rodea se denomina esporoder-

(4) Este último límite lo hace visible a simple vista.

mis y está constituida por dos paredes: la intina o capa interna y la exina o zona externa que recubre a la primera, nombres que como ya indicamos fueron señalados por FRITSCHÉ hacia 1840.

La intina es una capa homogénea constituida por celulosa, calosa, enzimas y proteínas varias, éstas, quizá, responsables de los procesos alérgicos.

La exina — que se origina antes que la intina — presenta como carácter más significativo su resistencia a la destrucción; es imputrescible, soporta temperaturas superiores a los 300.° C, resiste el ataque químico de ácidos y álcalis concentrados y, por supuesto, es inalterable por los agentes naturales (5). Por consiguiente, esta cubierta externa de los granos de polen no se destruye, persiste con sus características a través de los tiempos y esto permite reconocer la presencia de aquellos granos y establecer su frecuencia en sedimentos antiquísimos, ya que su misma pequeñez los defiende de la destrucción mecánica (Fig. 2).

Según BROOK y SHAW, la esporopolenina, componente fundamental de la exina y responsable de sus peculiares propiedades, es un polímero carotenoide que se localiza en los «cuerpos de UBISCH» que rodean las células madres del grano de polen.

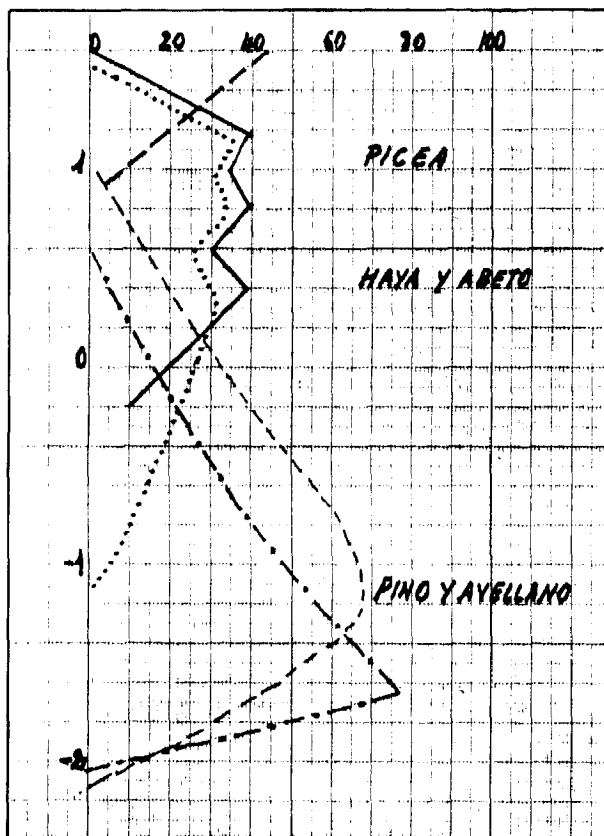


Fig. 2. — La región sur de Inglaterra, durante los últimos diez mil años — desde el final de la última glaciación — con el aumento de las condiciones climatológicas templadas, fue ocupada por una sucesión de árboles procedentes de zonas más calurosas: el sauce ártico, el pino y a éste el avellano.

(5) La estereoestructura de la exina acusa la existencia de dos estratos, de dentro a fuera *endesina* y *ectesina*, diferenciables por tinción con fuchina beta. En la ectesina se diferencian tres estratos: *tectum*, *infractectum* y *base*; sobre el *tectum* se desarrollan los elementos ornamentales del grano de polen. Esta complejidad estructural revelada por los avances tecnológicos en microscopía y químicos, ha obligado a los investigadores a unificar criterios y terminologías a fin de poder codificar los resultados de sus ya copiosas investigaciones.

En el esquema siguiente resumimos la compleja estructura de la esporodermis



Por último, diremos, que el tectum soporta los elementos esculturales que, por permanecer invariables dentro de la misma especie, son un valioso carácter para diferenciar los diversos tipos de polen que los poseen.

En la tabla II tomada de C. SAEZ y modificada, resumimos la clasificación de FAEGRI E IVERSEN respecto a la forma y tamaño de los elementos esculturales y el nombre que recibe el polen que los presenta.

TABLA II

Forma	Eje mayor, en micras	Nombre	Polen
	Entre 2 y 5	Espina	Espinoso
	Entre 2 y 5	Báculo	Baculado
	Entre 2 y 3	Verruga	Verrugoso
	Entre 2 y 4	Gema	Gemado
	Entre 2 y 3	Pilo	Pilato
	Entre 2 y 4	Clava	Clavado
	Entre 1 y 1,5	Granulo	Granuloso

Finalmente, cuando la capa celular fibrosa que envuelve los granos de polen en la antera produce la deshidratación y se rasga, el polen sale al exterior; entonces dichos granos son transportados hasta el gineceo o conjunto de los órganos

femeninos de la flor mediante un proceso que se conoce como polinización (6).

Como es sabido la polinización puede ser, fundamentalmente, anemófila o zoidiofila, según el transporte del polen sea realizado por el viento o por los animales respectivamente.

La anemofilia es favorecida por el pequeño tamaño del grano de polen, la superficie esporodérmica lisa, o, por el contrario, la presencia de excrescencias, tales como espigas y crestas, que al aumentar el volumen del grano disminuyen su densidad. Otras veces, el polen, posee aparatos de flotación, como los llamados sacos aeríferos que presenta el de las Pináceas.

Si la polinización zoidiofila es efectuada por los insectos se llama entomófila y es favorecida por la superficie áspera del grano que facilita la adhesión del polen tanto al insecto transportador como a los estigmas de la flor femenina (7).

Otro tipo de polinización, la hidrogamia, es una adaptación de la planta a que el vehículo transportador del polen sea el agua; en este caso el polen está casi desprovisto de exina, lo cual favorece este tipo de polinización.

Aunque parece haber una mayor especialización en la zoidiofilia que en la anemofilia y, por tanto, puede considerarse la primera como un carácter más evolucionado, ambos procesos son reversibles y a veces coexisten en mayor o menor grado dentro de la misma planta; no obstante, más de un 80 por 100 de las plantas fenerógamas son entomógamas.

#### ANÁLISIS POLÍNICO. PALINOGRAMAS

Ya hemos señalado antes el amplio campo de aplicaciones que ofrece el análisis polínico: sistemática vegetal, análisis polínico de sedimentos, contenido palinológico del aire (aeropalinología) y análisis de las mieles (8) y otros productos dietéticos, entre los más estudiados.

No obstante, dado el carácter de este artículo, creemos oportuno limitar nuestra referencia a una somera revisión de aquellas técnicas de estudio generales que se puedan realizar con el polen fresco o de herbario, microscopía óptica y tratamiento químico acetolítico normalizado, dejando para otra ocasión el comentario de técnicas específicas como el análisis polínico de sedimentos de gran interés, entre otros, para estudiantes de arqueología.

La recogida de polen fresco exige tomar algunas precauciones importantes. En primer lugar y tras la identificación de la planta y la localidad, el polen debe recogerse de anteras recién abiertas que nos aseguren granos maduros. Se dejan secar al aire sobre hojas de papel de filtro, estrujan, sacuden y en caso necesario se tamizan, guardando el polen obtenido en tubos de vidrio perfectamente cerrados. También podemos conservar las anteras completas en recipientes de vidrio sumergidas en ácido acético glacial.

La forma, el color natural y la ornamentación de la cubierta del grano de polen es fácil de descubrir, llevando con la extremidad de una varilla de vidrio y sobre un portaobjetos limpio algunos granos de polen; depositar sobre ellos una gota de agua, poner encima el cubreobjetos y examinar, primero con pequeño aumento y, con mayor, después. Ejerciendo sobre el cubreobjetos ligera presión y un débil movimiento circular, los granos varían de posición pudiéndose observar en otro plano aunque para ello tengamos que corregir el enfoque.

(6) El mecanismo exacto mediante el cual la polinización provoca la formación de auxina permanece aún en la oscuridad pese a los intentos llevados a cabo para resolver el problema.

(7) Si son animales voladores como murciélagos y pájaros se llama *ornitogamia*. Si son los gusanos, el mecanismo recibe el nombre de *malacofilia*.

(8) Investigadores del Instituto Waite de Investigación agrícola de Australia consiguieron aislar en el polen natural el elemento que incita a las abejas a fabricar la jalea real. Se trata del ácido CIS-12 trienoico, el cual es la clave del ciclo de la producción de miel por las abejas.

Si sustituimos el agua por xilol o aceite de cedro, el polen así tratado no sufrirá deformación y podremos realizar mediciones (9) con bastante exactitud. Y, finalmente, sustituyendo en el montaje aquellos reactivos por bálsamo de Canadá, conseguimos preparaciones de duración indefinida.

Sin ánimo de realizar mediciones pero sí de conseguir la transparencia de los granos y hacer resaltar las zonas de apertura, se puede utilizar el ácido fénico, hidrato de cloral (simple y yodado) y algunos otros, que por una parte, disuelven algunas sustancias e hinchan otras; y, por otra, poseen un poder de refracción superior al del agua.

Para distinguir mejor las dos membranas, la exina y la intina se utilizan diversos colorantes, como hematoxilina, verde de metilo, safranina, verde yodo, etcétera. Sobre el polen ya colocado en el portaobjetos se deposita una gota de reactivo y después de algunos minutos se observa con el microscopio. También puede realizarse la tinción y después montar en gelatina glicerizada que mientras se mantiene caliente permite ejercer ligeras presiones y movimientos y lograr diversas posiciones de los granos, como en el caso anterior.

La acetolisis es una manipulación química que los palinólogos utilizan para purificar el material polínico a la vez que lo normalizan para el ulterior tratamiento de la información numérica que su estudio suministra.

La mezcla acetolítica consta de nueve partes de anhídrido acético y una parte de ácido sulfúrico concentrado. El polen es tratado por esta mezcla calentada a b.m. durante cinco o diez minutos. Si el polen lleva impurezas se centrifuga y, en todo caso, se lava varias veces con agua destilada, centrifugando después del último lavado. Se decanta el líquido y se vierte el polen sobre papel de filtro, dejándolo secar durante un día como mínimo.

Generalmente la descripción del grano de polen en términos numéricos con el microscopio óptico se hace midiendo con el ocular micrométrico el eje polar P y el diámetro ecuatorial E y hallando su cociente. Se completa la información calculando la moda, mediana, límites, desviación típica, etcétera, y en general por aplicación del análisis estadístico.

Con los datos proporcionados por la observación microscópica, los que arroja el análisis numérico simple y por la aplicación y tratamiento estadístico, se confeccionan una serie de dibujos a escala más o menos esquemáticos del grano de polen, que comprendan su visión general y tantas representaciones parciales cuantas sean precisas para tener información de aperturas, capas de la esporodermis, ornamentación de la exina, etcétera. Estas representaciones visuales se llaman palinogramas.

#### NOTA BIBLIOGRAFICA

- DICCIONARIO DE BOTANICA; Font Quer.
- PRINCIPIOS DE BIOLOGIA GENERAL; Loustau.
- POLEN Y ESPORAS; C. Saez.
- HANDBOOK OF PALYNOLOGY; G. Erdtman.
- TECNICA Y OBSERVACION MICROSCOPICA; J. Pujiula.

(9) Cuando por razones de rapidez o simplicidad precisamos conocer los parámetros para calcular el volumen o el área.

#### NOVEDADES

- C. Llopis y C. Carral:  
**LAS CIENCIAS SOCIALES EN EL AULA. 875 ptas.**
- J. M. Fernández, J. M. Román y R. Oteo:  
**SEMINARIOS DIDACTICOS EN BACHILLERATO. 625 ptas.**
- L. Pozuelo, C. Sánchez y L. Louzao:  
**DIDACTICA PARA LA CLASE DE IDIOMA. 540 ptas.**
- H. Entwistle:  
**LA EDUCACION POLITICA EN UNA DEMOCRACIA. 435 ptas.**
- A. J. Hernández:  
**EXPERIENCIAS DE INTERDISCIPLINARIEDAD. LAS CIENCIAS NATURALES EN EL BACHILLERATO. 365 ptas.**
- C. Usabiaga y C. del Valle:  
**LA HISTORIA DE LA CIENCIA EN EL AULA. 215 ptas.**
- C. Barrientos:  
**EL LIBRO-FORUM: UNA TECNICA DE ANIMACION A LA LECTURA. 215 ptas.**
- K. Strike y K. Egan:  
**ETICA Y POLITICA EDUCATIVA. 890 ptas.**
- M. Postic:  
**LA RELACION EDUCATIVA. 725 ptas.**
- P. Juif y L. Legrand:  
**DIDACTICA Y RENOVACION PEDAGOGICA. 675 ptas.**
- J. M. Cobo:  
**LA ENSEÑANZA SUPERIOR EN EL MUNDO. ESTUDIO COMPARADO E HIPOTESIS. 1.210 ptas.**



**NARCEA, S. A. DE EDICIONES**  
Dr. Federico Rubio, 89 - Teléf. 254 61 02  
Madrid-20