

À partir de l'élaboration d'une collection comparative de pollen et de spores modernes obtenue par échantillonnage de matériel frais provenant de diverses localités de la Sierra et le Littoral équatoriens, le développement et l'application de démarches d'analyses physico-chimiques, le registre détaillé de chaque spécimen et la systématisation de l'information obtenue, l'on cherche à contribuer à la recherche menée sur les sites archéologiques par le biais de la connaissances des espèces qui les peuplaient et de leur évolution dans le temps.

Introducción

La palinología es una disciplina de la Botánica dedicada al estudio de los granos de polen (producidos por las angiospermas y gimnospermas) y esporas (producidas por pteridofitos, briofitos, algas y hongos)¹.

Los campos de aplicación de la Palinología son cada vez más amplios: la aeropalinología que estudia el contenido esporopolínico del aire y sus efectos sobre la salud humana; la melitopalinología, especializada en los pólenes contenidos en las mieles; paleopalinología, encargada del estudio de polen fósil. También es de gran ayuda para otras ciencias como la medicina, botánica, arqueología, geología, criminología, agricultura, geografía, etc.².

La reconstrucción de la vegetación y el clima, a partir del estudio de polen fósil, son los objetivos más conocidos de la palinología; se prefieren como lugares de muestreo los sedimentos que están permanentemente anegados (pantanos, fondo de los lagos, piso de los océanos), ya que la falta de oxígeno inhibe la descomposición biológica de los granos de polen.

La información obtenida a partir del análisis de polen fósil permite acercarse al entendimiento de las relaciones existentes entre seres humanos y su ambiente, fundamentalmente desde dos perspectivas:

1. Los recursos que el medio proporcionaba al ser humano para la satisfacción de necesidades en la sobrevivencia y el desarrollo de su cultura: Información relacionada con materiales y técnicas para la construcción, elaboración de instrumentos, armas, herramientas, uso de materiales combustibles, alimentos, medicinas, etc.; y
2. El impacto que tuvieron las actividades humanas en el contexto natural al ir modificando

Analyse de Pollen: Construction d'une Collection de Pollen Frais*

Écrit par Martha Romero, Ana Guachamín, Fernando Espinoza

Jeudi, 18 Novembre 2010 08:17 - Mis à jour Vendredi, 19 Novembre 2010 03:34

un paisaje cultural por aspectos como: uso del suelo para agricultura, edificaciones, caminos, técnicas agrícolas empleadas, entre otras.

El Polen y las Esporas

El polen es un grano producido por las plantas terrestres que se encuentra en los sacos polínicos de las anteras de las flores y contiene las células masculinas que darán origen a una nueva planta³.

{rokbox title=|Grano de polen :: Nototriche hartwegii|/images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_8.jpg{/rokbox}

La espora es el corpúsculo reproductor de las plantas como los helechos, algas, musgos y hongos, este organismo es capaz de dar nacimiento a una nueva planta⁴.

{rokbox title=|Espora :: Cyathea caracasana|/images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_9.jpg{/rokbox}

Estructura del grano de polen

Un grano de polen está constituido por tres capas concéntricas: célula viva, intina y exina. La célula viva contiene al núcleo y los gametos masculinos, es la parte que germina, al efectuar la fertilización de la parte femenina de la flor. La intina tiene espesor regularmente homogéneo, está compuesta por celulosa y otros elementos incluyendo proteínas⁵. La exina es la capa externa, es más gruesa, está compuesta principalmente por esporopolenina, una de las sustancias orgánicas naturales más resistente dentro del reino vegetal ya que soporta la acción de los ácidos y las bases concentradas, así como el calentamiento hasta los 300 grados centígrados, solo degradable por ciertos oxidantes muy fuertes y por microorganismos⁶

. La esporopolenina se forma por polimerización oxidativa de carotenos y ésteres de carotenos en proporciones variables y se conserva muy bien en fósiles⁷

La exina muestra un mayor grado de diferenciación estructural en las Angiospermas, se pueden distinguir 2 partes: la endexina, es la capa interna, homogénea, y la ectexina es la capa externa, es la porción esculturada, consta de bastones o báculas que pueden unirse entre sí por los extremos formando el tectum⁸.

{rokbox title=|Estructura del grano de polen|/images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_10.jpg{/rokbox}

La ectexina es fácilmente estudiada al microscopio, por observación de la superficie y enfocando los componentes internos presentan características usadas para distinguir el polen de los diferentes tipos de taxones.

En la exina hay aperturas a través de las cuales germina el tubo polínico, las aperturas generalmente se dividen en dos tipos: poros y colpos. La localización de los poros en el grano de polen y el número de aperturas presentes son usualmente característicos del tipo de polen. El número de aperturas varía desde ninguno hasta cuarenta y es un buen carácter taxonómico, así muchos granos de polen de dicotiledóneas tienen tres aperturas equidistantes; muchas monocotiledóneas, incluidas las hierbas, se caracterizan por la presencia de una sola apertura en la parte distal del eje polar⁹.

Además de las características de la exina y la forma de los granos de polen, el tamaño puede ser usualmente un criterio para diferenciar el polen, ya que varía considerablemente entre uno y otro taxón. Los granos de polen que han sido observados varían dentro de un rango de tamaño que va desde los cinco hasta los doscientos micrones¹⁰.

Análisis de Polen

El polen y las esporas liberados por las plantas y mezcladas en la atmósfera caen sobre la superficie de la tierra y el agua, es la llamada "lluvia de polen", que es una representación de la vegetación que lo produce, la secuencia de sedimentos formados a lo largo del tiempo son un

Analyse de Pollen: Construction d'une Collection de Pollen Frais*

Écrit par Martha Romero, Ana Guachamín, Fernando Espinoza

Jeudi, 18 Novembre 2010 08:17 - Mis à jour Vendredi, 19 Novembre 2010 03:34

registro de la vegetación pasada y un referente para determinar el impacto que las actividades del hombre tuvieron sobre el ambiente¹¹. La extracción, el conteo y la determinación de los pólenes y las esporas restituyen fielmente la imagen de la “lluvia polínica”

12

.

El principio del análisis polínico se basa en la gran resistencia que presenta la exina del grano a destruirse bajo condiciones de baja actividad microbiana, sitios encharcados, bajo pH, alta aridez, altos niveles de sal o presencia de iones metálicos como por ejemplo cobre¹³.

A la hora de interpretar los datos hay que tener en cuenta la destrucción parcial de los pólenes en los yacimientos que puede darse por: degradación mecánica producida por el roce con otras partículas; destrucción química por el pH de los sedimentos y por la composición de sus exinas; y por acción de los agentes biológicos, hongos y bacterias principalmente. Otros factores a tener en cuenta son las mezclas producidas por animales (roedores, lombrices, hormigas), las raíces, o los movimientos del agua y del viento¹⁴.

Microfotografías de granos de polen:

{rokbox title=|a.- Chuquiraga jussieu (tricolporado, foveolado)}|images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_11.jpg{/rokbox} {rokbox title=|b.- Agave americana (esferoidal, reticulado)}|images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_12.jpg{/rokbox} {rokbox title=|c.- Onoseris hyssopifolia (prolato, diporado)}|images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_13.jpg{/rokbox} {rokbox title=|d.- Pelargonium peltatum (triporado, reticulado)}|images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_14.jpg{/rokbox} {rokbox title=|e.- Croton elegans (esferoidal, gemado)}|images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_15.jpg{/rokbox} {rokbox title=|f.- detalle de la ornamentación reticulado.}|images/stories/revista_inpc/INPC_Revista_2_16.jpg{/rokbox}

Por último, los granos de polen y esporas presentan una estructura y ornamentación típicas que los hace fáciles de reconocer e identificar, aunque muchas veces no sea posible llegar a determinar a nivel de especie, alcanzándose solo el de género o incluso de familia¹⁵.

Para elegir los sitios de muestreo, hay algunas consideraciones para evaluar el potencial de conservación del polen de un suelo antes del análisis. Bryant (1978)¹⁶, ha sugerido como regla que en suelos con menos del 1% de materia orgánica no es probable que contengan polen. Pearseall (2000) a partir de sus trabajos en Centro y Sur América, afirma que los peores ambientes para la preservación del polen son: ambientes con alcalinidad elevada, suelos o sedimentos con depósitos de agua, suelos con alto porcentaje de hojas enmohecidas y suelos arcillosos de los ríos y en cambio que, los suelos ácidos, los depósitos de sedimentos ácidos, la presencia de sales metálicas (ejemplo sales cúpricas), y el alto contenido de áridos (áreas desérticas, cuevas secas) tienen mayor probabilidad de preservación del polen, ya que éstos factores inhiben el crecimiento microbiológico, el cual es crucial para la preservación del polen.

Materiales y Métodos

Lugares de muestreo

El muestreo del material fresco se lo realizó en campo en las provincias de: Pichincha en las localidades de Guayllabamba, Parque Metropolitano, Calderón, Mindo y la reserva Pahuma (Nanegalito); en la provincia de Esmeraldas, en la reserva Mache- Childul; en la provincia de Chimborazo; y en la provincia del Carchi. Durante el 2010 se prevé continuar con la recolección del material fresco en otras localidades de las provincia de Pichincha, Loja y en la Amazonía.

Protocolo de muestreo

La recolección del polen debe seguir los pasos descritos a continuación:

1. Escoger las flores que apenas se hayan abierto, ya que así se garantiza que las anteras tengan suficiente cantidad de polen.
2. Realizar el registro fotográfico de la planta completa y la flor.
3. Cortar las anteras con una pinza e introducirlas en tubos de ensayo debidamente codificados.
4. Utilizar materiales limpios y recipientes estériles para cada muestra.
5. Recolectar las muestras botánicas de la planta por triplicado, para ser prensadas y montadas.
6. Anotar todas las observaciones relativas a la planta en el cuaderno de campo.

Aunque en este proyecto no se realizó muestreo de suelos para el análisis de polen fósil, sin embargo se describe a continuación el protocolo para la extracción de muestras sugerido por el Laboratorio de Química del INPC:

1. Limpiar la zona elegida inmediatamente antes del muestreo, eliminando la vegetación y humedeciendo un poco la tierra pulverizando agua.
2. Usar herramientas limpias para la toma de cada muestra.
3. Colectar entre $\frac{1}{2}$ y 1 kilo de material, para garantizar suficiente muestra en caso de ser necesaria la repetición del análisis¹⁷.
4. Emplear contenedores estériles para cada muestra. Si la muestra está húmeda adicionar unas gotas de etanol para prevenir el crecimiento de microorganismos que destruyan el polen.
5. Codificar las muestras con marcador permanente con información del lugar de extracción, profundidad, fecha, recolector y cualquier tipo de observaciones adicionales y si es posible hacer un registro fotográfico del lugar de muestreo.
6. Cuando se colecte muestras de perfiles, tomar la muestra de cada estrato por separado, iniciando por la parte inferior hasta la superior, así se asegura que el material de los estratos superiores no caiga y contamine las muestras de los estratos inferiores. El movimiento de la espátula debe ser lateral siguiendo el plano del estrato, esto previene que se contaminen los estratos¹⁸.

Técnica de análisis

Son varios los métodos que se pueden aplicar para observar los granos de polen; lo que se pretende es eliminar la mayor cantidad de residuos vegetales y materias orgánicas no esporopolínicas, concentrar los granos de polen y esporas y evitar que se dañen. Para lograr este objetivo lo que se hizo es separar el polen y las esporas de otros residuos vegetales (tratamiento físico), procesarlo químicamente para observar con claridad la ornamentación (proceso químico) y conservar el residuo final (montaje).

El procedimiento empleado en este proyecto se basa en el método de acetólisis de Erdtman¹⁹ al cual se le hizo algunas modificaciones:

1. Introducir el material vegetal recolectado en una solución de agua destilada, y romper a continuación las anteras para liberar el polen, con la ayuda de una pinza.
2. Filtrar con una malla metálica de 100 ó 200 μm , según el tamaño de los pólenes, para

Analyse de Pollen: Construction d'une Collection de Pollen Frais*

Écrit par Martha Romero, Ana Guachamín, Fernando Espinoza

Jeudi, 18 Novembre 2010 08:17 - Mis à jour Vendredi, 19 Novembre 2010 03:34

dejar los granos limpios de residuos de la corola, cáliz, entre otros.

3. Adicionar la mezcla acetolítica, calentar en baño maría, centrifugar y lavar con agua destilada.
4. Lavar con ácido acético glacial y concentrar.
5. Poner una microgota del preparado en un portaobjetos y fijar en glicerogelatina.
6. Hacer el registro micro-fotográfico y describir.

Cada registro de especie está respaldado con una muestra de Herbario identificado, en la mayoría, a nivel de especie, que se encuentra depositado en el Laboratorio de Química; a futuro se prevé proporcionar duplicados de las muestras a los herbarios de la ciudad de Quito.

El procedimiento empleado en el Laboratorio de Química del INPC para la extracción de polen fósil se basa en el método de Pearsell²⁰ al que se le hicieron varias modificaciones. Al igual que en el procedimiento para la extracción de polen fresco, éste consiste en la aplicación de procesos físicos y químicos para al final hacer el montaje.

Tratamientos Físicos: Con el fin de disminuir el tamaño de los agregados para facilitar el ataque ácido posterior.

1. Disgregar la muestra y tamizar para eliminar elementos extraños como raíces, piedras, fragmentos cerámicos, entre otros.

Tratamientos Químicos: Para eliminar los compuestos orgánicos e inorgánicos que tiene el suelo, mediante diferentes reacciones químicas, dejando el polen intacto y concentrado al máximo.

1. Eliminar los carbonatos, arcillas y materia orgánica, con la utilización de reactivos químicos específicos.
2. Hacer la flotación, en el que se utiliza un líquido denso.

Montaje: una vez extraído el polen del suelo, se requiere hacer el montaje en preparaciones microscópicas.

Analyse de Pollen: Construction d'une Collection de Pollen Frais*

Écrit par Martha Romero, Ana Guachamín, Fernando Espinoza

Jeudi, 18 Novembre 2010 08:17 - Mis à jour Vendredi, 19 Novembre 2010 03:34

1. Tomar una micro gota de la solución concentrada y poner en una placa con silicona como medio de montaje.
2. Sellar la muestra con la utilización de parafina o cualquier pegamento histológico.
3. Lectura de las preparaciones, para lo cual se a han hecho cuatro barridos completos .Se utilizó un microscopio Axio Scope A1 de Karl Zeiss.
4. La identificación del polen fósil se realiza, a través de la comparación de características morfológicas entre un espécimen de una planta conocida (polen fresco) y el material arqueológico desconocido.

Primeros Resultados

El tratamiento del material vegetal recolectado ha concluido; el registro, descripción y sistematización del polen y esporas obtenido está en proceso, teniendo hasta la fecha una colección con 147 especies registradas, de las cuales el 72% son de la provincia de Pichincha, el 14% de la provincia de Carchi, el 10% de la provincia de Esmeraldas, el 3% de la provincia de Chimborazo y el 3% de la provincia de Manabí.

Las 147 especies registradas han originado 447 imágenes, cada registro de la especie contiene: la imagen de la planta, las imágenes del polen hidratado, deshidratado y de la ornamentación, el tamaño, descripción técnica del polen, la taxonomía, distribución y un mínimo de información etnobotánica. En un futuro se espera contar con una colección representativa de plantas endémicas y nativas del Ecuador²¹.

La Colección de Polen y Esporas se encuentra a disposición de arqueólogos, biólogos, agrónomos, químicos, investigadores y público en general en el Laboratorio de Química del Instituto Nacional de Patrimonio Cultural o en la página web de la institución como Base de datos de Polen y Esporas (www.inpc.gov.ec).

Notas:

** Agradecemos las observaciones realizadas a este artículo por el doctor Carlos Cerón, del Herbario Carlos Paredes, Universidad Central del Ecuador.*

Analyse de Pollen: Construction d'une Collection de Pollen Frais*

Écrit par Martha Romero, Ana Guachamín, Fernando Espinoza

Jeudi, 18 Novembre 2010 08:17 - Mis à jour Vendredi, 19 Novembre 2010 03:34

1. P.D. Moore, J. A. Webb and M. E. Collinson, *Pollen Analysis*, 2 ed., Oxford, Blackwell, 1991
2. M. Dupre, *Palinología y Paleoambiente. Nuevos datos españoles*, Valencia, 1988.
3. <http://www.paleobotanica.uchile.cl/palinologia.html>
4. <http://www.paleobotanica.uchile.cl/palinologia.html>
5. Deborah.M. Pearsall, *Paleoethnobotany a Handbook of Procedure*, Columbia, U.S.A., Academic Press, 2000
6. Concepción Sáenz, *Polen y Esporas*, Madrid, Blume Ediciones, 1978
7. Brookes, D. & Thomas, K.W. The distribution of pollen grains of microscope slides. Part I. The nonrandomness of the distribution. *Pollen et Spores*, 1967, pp: 621-629.
8. Fahn, A., *Plant Anatomy*, 3ed., Oxford, Pergamon, 1982
9. Deborah M. Pearsall, *Paleoethnobotany...*, op. cit.
10. Knut Faegri, Peter Emil Kaland, and Knut Krzywinski, *Textbook of Pollen Analysis*, 4 ed. Wiley, Chichester, 1989.
11. Deborah M. Pearsall, *Paleoethnobotany*, op. cit
12. M. Reille, *Leçon de Palynologie et d'analyse pollinique*, C.N.R.S., París, 1990.
13. P.D. Moore, & Webb, J.A., *An Illustrated Guide to Pollen Analysis*, Hodder & Stroughton, London, 1978
14. G.W. Dimbleby, *The Palynology of Archaeological sites*, London, Academic Press Inc., 1985
15. P.D. Moore, & Webb, J.A., *An Illustrated...*, op. cit
16. Vaughn M Bryant, Jr., *Palinology: A useful method for determining paleoenvironment*, *Texas Journal of Science* 30, pp. 25-42.
17. Vaughn M Bryant, Jr., and Richard G. Holloway, *The role of palinology in archaeology*. In *Advances in Archaeological Method and Theory*, Vol. 6, New York, 1983, pp: 191-223
18. Ibid.
19. G. Erdtman, *The acetolysis method. A revised description*. *Svensk Bot. Tidskr.*, 1960, pp.: 561-564.
20. Deborah M. Pearsall, *Paleoethnobotany ...*, op. cit.
21. Actualmente se encuentra en proceso un proyecto para la recolección de muestras de polen y esporas con la doctora Mercedes Asanza y el doctor David Neill, a fin de incrementar la base de datos.

Bibliografía:

Brookes, D. & Thomas, K.W., *The distribution of pollen grains of microscope slides. Part I. The nonrandomness of the distribution*. *Pollen et Spores*, 1967, pp.621-629.

Bryant, Vaughn M., Jr., *Palinology: A useful method for determining paleoenvironment*, Texas

Analyse de Pollen: Construction d'une Collection de Pollen Frais*

Écrit par Martha Romero, Ana Guachamín, Fernando Espinoza

Jeudi, 18 Novembre 2010 08:17 - Mis à jour Vendredi, 19 Novembre 2010 03:34

Journal of Science 30, pp.25-42.

Bryant, Vaughn M., Jr., and Richard G. Holloway, The role of palinology in archaeology. In *Advances in Archaeological Method and Theory*, Vol. 6, New York, 1983, pp. 191-223

Dupre, M., *Palinología y Paleoambiente. Nuevos datos españoles*, Valencia, 1988.

Dimbleby Erdtman, G., The acetolysis method. A revised description. *Svensk Bot. Tidskr.*, 1960, pp, 561-564.

Faegri, Knut, Peter Emil Kaland, and Knut Krzywinski, *Textbook of Pollen Analysis*, 4 ed. Wiley, Chichester, 1989.

Fahn, A., *Plant Anatomy*, 3 ed., Oxford, Pergamon, 1982

Moore, P.D., J. A. Webb, and M. E. Collinson, *Pollen Analysis*, 2 ed., Oxford, Blackwell, 1991.

Moore, P.D., & Webb, J.A., *An Illustrated Guide to Pollen Analysis*, London, Hodder & Stroughton, 1978

Pearsall, Deborah.M.. *Paleoethnobotany a Handbook of Procedure*, Columbia U.S.A., Academic Press, 2000

Reille, M., *Leçon de Palynologie et d'analyse pollinique*, C.N.R.S., París, 1990.

Sáenz, Concepción, *Polen y Esporas*, Madrid, Blume Ediciones, 1978

Analyse de Pollen: Construction d'une Collection de Pollen Frais*

Écrit par Martha Romero, Ana Guachamín, Fernando Espinoza

Jeudi, 18 Novembre 2010 08:17 - Mis à jour Vendredi, 19 Novembre 2010 03:34

www.paleobotanica.uchile.cl