

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO

**BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E FENOLOGIA EM**  
*Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae)  
**OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA**

**Tiago Abreu da Silva**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**  
**2024**

**BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E FENOLOGIA EM  
*Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae) OCORRENTES NA  
MATA ATLÂNTICA**

**Tiago Abreu da Silva**

Licenciado em Ciências Biológicas  
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano  
(IF-Baiano), 2021

Dissertação apresetada ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e da Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

**Orientador:** Prof. Dr. Everton Hilo de Souza

**Coorientadora:** Profa. Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza

**Coorientadora:** Profa. Dra. Lidyanne Yuriko Saleme Aona

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
2024**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Tiago Abreu da

Biologia floral, reprodutiva e fenologia em *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae) ocorrentes na Mata Atlântica, 2024.  
120 f. il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Everton Hilo de Souza  
Coorientador: Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza  
Coorientador: Dr. Lidyanne Yuriko Saleme Aona

Dissertação (Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2024.

1. Bromélia 2. Polinização 3. Conservação I. Souza, Everton Hilo de II. Souza, Fernanda Vidigal Duarte III. Aona, Lidyanne Yuriko Saleme IV. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, V. Título.

CDU: 584.85


Ficha catalográfica elaborada por Lucidalva R. G. Pinheiro Perrone- Bibliotecária CRB51161 –Embrapa Mandioca e Fruticultura

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**


**BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E FENOLOGIA EM  
Hohenbergia Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae) OCORRENTES NA  
MATA ATLÂNTICA**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de  
Tiago Abreu da Silva


Aprovado em 28 de fevereiro de 2024

Documento assinado digitalmente  
 **EVERTON HILO DE SOUZA**  
Data: 03/04/2024 20:30:32-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Everton Hilo, de Souza  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
(Orientador)

Documento assinado digitalmente  
 **JORDANO DORVAL TAVARES DE CARVALHO**  
Data: 25/03/2024 09:35:37-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Jordano Dorval Tavares de Carvalho  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)  
(Examinador Externo)

Documento assinado digitalmente  
 **BRAYAN PAIVA CAVALCANTE**  
Data: 27/03/2024 00:19:04-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Brayan Paiva Cavalcante  
Universidade de São Paulo (CENA/USP)  
(Examinador Externo)

*À minha filha Juliana.  
É por você!*

## AGRADECIMENTOS

Ser grato é reconhecer a importância de cada participante do processo! Por isso, agradeço:

À Deus, por ter me dado direcionamento e equilíbrio;

À minha família por todo apoio, compreensão e cuidado, em especial Juliana Abreu, que me surpreende a cada dia. Você é incrível filha!

A Wanderley Diaciso Oliveira, por ser canal para que eu conseguisse viver essa fase da minha vida, por todo seu apoio e cuidado comigo. Essa realização só foi possível porque você possibilitou;

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) por conter o Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, com profissionais de excelência e dar suporte a minha pesquisa em diversos aspectos;

À Embrapa - Mandioca e Fruticultura por permitir o acesso a suas estruturas, uso dos equipamentos e materiais, além do suporte dos grandes profissionais que possui;

À CAPES pelo auxílio financeiro durante os dois anos em que estive na Pós-Graduação, por meio da bolsa de estudo, sem a qual eu não conseguiria estar em Cruz das Almas. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001;

Ao presidente do Brasil, Luiz Inácio Lula da Silva, pelo reajuste das bolsas;

À Reserva Biológica Michelin pelo convênio "Levantamento florístico de epífitas e aspectos fenológicos e reprodutivos em Bromeliaceae na Reserva da Michelin, Bahia, Brasil" e auxílio financeiro concedido durante a realização deste trabalho;

Ao meu orientador Dr. Everton Hilo de Souza, por antes mesmo de me conhecer confiar em meu trabalho e me dar a oportunidade de ingressar na pesquisa. Por toda troca de conhecimento que tivemos, aprendizado extracurricular e principalmente por ser amigo, de modo que sou certo que posso contar sempre.

Às minhas coorientadoras Dra. Lidyanne Yuriko Saleme Aona e Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza pelas contribuições neste trabalho e aprendizado em demais encontros que tivemos;

À Pedro Schwambach de Almeida pelo auxílio e colaboração nas etapas de análise de Microscopia Eletrônica de Varredura dos grãos de pólen e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul na pessoa do Prof. Jorge Ernesto de Araujo Mariath pela disponibilidade da infraestrutura para realização deste trabalho;

À Adelly Fagundes pelos ensinamentos e disponibilidade. Você foi essencial nessa pesquisa!

Ao professor Carlos Alfredo Carvalho (UFRB), pelo auxílio na identificação dos insetos;

Aos meus parceiros do grupo de Bromélias, Railson de Almeida Júnior, Gleice Quelle Nascimento, Mirelli Souza, Sandra Souza, Simplício Mota, Ila Adriane Faro, Sara Cristina Oliveira, Rivã França, Lucas Daniel Silva, Danilo Andrade, obrigado pela troca de conhecimentos. Tivemos experiências maravilhosas juntos;

Ao Sr. Eduardo (*in memoriam*) e seu filho Lucas, por permitir a realização da pesquisa em sua propriedade;

Aos professores da UFRB e pesquisadores da Embrapa que se empenharam para compartilhar as teorias e técnicas que contribuíram para realização da minha pesquisa;

Aos técnicos da UFRB e Embrapa que atuaram direta e indiretamente com a execução dos trabalhos;

Aos pesquisadores que com seu trabalho árduo e de suma importância coletaram e descreveram as espécies de bromélias que trabalhei, assim como aqueles que desenvolveram as técnicas que utilizei na pesquisa;

À Prefeitura Municipal de Ubaíra, por me afastar das atividades trabalhistas para que fosse possível realizar a Pós-graduação.

A todos e todas que contribuíram direta e indiretamente para que eu chegasse até aqui. Meu muito obrigado!

## **BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E FENOLOGIA EM *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae) OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA**

**RESUMO:** *Hohenbergia* Schult. & Schult.f pertence à família Bromeliaceae, subfamília Bromelioideae e possui como caracteres diagnósticos, inflorescência racemosa composta ou bicomposta, na qual os ramos de segunda ou terceira ordem são congestos, ou seja, com entrenós curtos e flores agrupadas em glomérulos ou fascículos, brácteas florais evidentes, assimétricas, com ápice pungente, recobrando o ovário dorso-ventralmente, óvulos caudados. Atualmente, o gênero possui 55 espécies, sendo 53 endêmicas do Brasil. Destas, 21 são encontradas apenas na Mata Atlântica do estado da Bahia. Dados sobre fenologia, morfologia, viabilidade polínica, sistemas reprodutivos e biologia da polinização fornecem informações importantes para estudos taxonômicos, reprodutivos, melhoramento e conservação das espécies. Este trabalho teve como objetivo estudar a biologia floral, reprodutiva, fenologia e interação com visitantes florais de sete espécies do gênero *Hohenbergia* encontradas em fragmentos florestais da Mata Atlântica do estado da Bahia. Os resultados demonstraram que todas as espécies apresentam grãos de pólen em mônades, porados e com membrana da abertura ornamentada. Há variações referentes ao tamanho, formato, âmbito, polaridade e quantidade de poros e ornamentação da exina. Os estigmas das espécies possuem pequenas diferenças na cor e no tamanho. Todos são conduplicados-espinalados. Os grãos de pólen possuem maior viabilidade na antese coincidindo com a maior atividade enzimática do estigma. Quanto à fenologia, *Hohenbergia amargosensis* e *H. stellata* possuem ciclo vegetativo com duração de dois anos, sendo que *H. amargosensis* possui floração supra-anual a cada dois anos e *H. stellata* é uma espécie anual. Ambas as espécies se reproduzem de forma assexuada e sexuada, possuem sazonalidade em suas fenofases, com exceção da emissão de novas folhas em *H. stellata* e apresentam alta correlação das fenofases com a temperatura e precipitação, exceto a brotação de *H. amargosensis* com a temperatura. Todas as sete espécies são alógamas. *Hohenbergia capitata* e *H. nidularioides* apresentaram capacidade mista de fecundação, conferindo a estas duas espécies também a autogamia. Não foi verificada apomixia em nenhuma das espécies avaliadas. As principais barreiras reprodutivas intraespecíficas identificadas foram: ausência ou diminuição de deposição de grãos de pólen na superfície do estigma; inibição da germinação dos grãos de pólen no primeiro e segundo terço do estilete; enovelamento dos tubos polínicos no segundo terço do estilete e deposição reticulada de calose no tubo polínico. A antese floral das sete espécies acontece entre 5h40 e 6h, com maior liberação de grãos de pólen, néctar e concentração de açúcar a partir desse horário, diminuindo durante o período de abertura até o fechamento total da flor que ocorre entre 17h e 17h20. Foram registrados em *H. amargosensis* oito espécies de polinizadores, um visitante e um pilhador. Em *H. stellata*, quatro espécies de polinizadores e um visitante. Os agentes polinizadores com maior atividade pertencem às famílias Trochilidae e Apidae. Os resultados apresentados trazem contribuições importantes para a taxonomia, morfologia, conservação, geração de sementes e possível melhoramento das espécies de Bromeliaceae estudadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bromelioideae; Conservação; Sistema reprodutivo; Polinização; Polinizador; Teste histoquímico; Viabilidade polínica.



## FLORAL, REPRODUCTIVE BIOLOGY AND PHENOLOGY IN *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae) OCCURRING IN THE ATLANTIC FOREST

**ABSTRACT:** *Hohenbergia* Schult. & Schult.f belongs to the Bromeliaceae family, subfamily Bromelioideae and has as diagnostic characters, compound inflorescence, evident floral bracts, caudate ovules and flowers arranged in subglobose to cylindrical spikes. Currently, the genus has 55 species, 53 of which are endemic to Brazil. Of these, 21 are found only in the Atlantic Forest of the state of Bahia. Data on phenology, morphology, pollen viability, reproductive systems and pollination biology provide important information for taxonomic, reproductive, breeding and species conservation studies. This work aimed to study the floral, reproductive biology, phenology and interaction with floral visitors of seven species of the *Hohenbergia* found in forest fragments of the Atlantic Forest in the state of Bahia. The results demonstrated that all species have monad, porate pollen grains with an ornamented opening membrane. The variations refer to the size, shape, scope, polarity and number of pores and exine ornamentation. The stigmas of the species have small differences in color and size. Regarding the type, they are all conduplicate-spiral. Pollen grains have greater viability at anthesis, coinciding with the greater enzymatic activity of the stigma. In terms of phenology, *Hohenbergia amargosensis* and *H. stellata* have a vegetative cycle lasting two years, with *H. amargosensis* flowering supra-annual every two years and *H. stellata* annual. Both species reproduce asexually and sexually, have seasonality in their phenophases, with the exception of the emission of new leaves in *H. stellata*, and have a high correlation of phenophases with temperature and precipitation, except for the budding of *H. amargosensis* with the temperature. All seven species are allogamous. *Hohenbergia capitata* and *H. nidularioides* presented a mixed system, giving these two species also autogamy. No agamospermy was observed in any of the species evaluated. The main reproductive barriers identified were: lack of deposition of pollen grains on the stigma surface; inhibition of pollen grain germination in the first and second third of the style; coiling of pollen tubes in the second third of the style; and reticulate deposition of callose in the pollen tube. Floral anthesis of the seven species takes place from 5:40 am to 6:00 am, with a greater release of pollen grains, nectar and sugar concentration from this time onwards, decreasing during the opening period until the total closure of the flower which occurs between 5:00 pm and 5:20 pm. Eight species of pollinators, one visitor and one plunderer were recorded in *H. amargosensis* and four species of pollinators and one visitor in *H. stellata*. The most active pollinators belong to the Trochilidae and Apidae families. The results presented make important contributions to the taxonomy, morphology, species conservation, seed generation and possible improvement of these Bromeliaceae species.

**KEYWORDS:** Bromelioideae; Conservation; Reproductive system; Pollination; Pollinator; Histochemical test; Pollen viability.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
REVISÃO DE LITERATURA.....	14
Bromeliaceae.....	14
<i>Hohenbergia</i> .....	15
Biologia floral e reprodutiva.....	17
Fenologia.....	20
REFERÊNCIAS.....	21
CAPÍTULO 1 - MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE <i>Hohenbergia</i> Schult. & Schult.f. (Bromelioideae, Bromeliaceae) OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA.....	34
INTRODUÇÃO.....	36
MATERIAL E MÉTODOS.....	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	59
CAPÍTULO 2 - FENOLOGIA E REPRODUÇÃO DE <i>Hohenbergia</i> Schult. & Schult.f. (Bromelioideae, Bromeliaceae) NA MATA ATLÂNTICA.....	70
INTRODUÇÃO.....	72
MATERIAL E MÉTODOS.....	74
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
CONCLUSÃO.....	107
REFERÊNCIAS.....	108
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	120

## INTRODUÇÃO

O Brasil concentra grandes centros de biodiversidade com destaque para o bioma Mata Atlântica, que corresponde ao território de uma das maiores florestas tropicais da América do Sul e é responsável por uma vasta diversidade de vida. Porém, a ação antrópica ao longo de muitos anos fez deste ambiente um local altamente degradado e fragmentado (XAVIER et al., 2019; GUERRA et al., 2020; FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2022).

Este domínio possui apenas 12,4% da sua área de mata natural (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2022) e está classificado como o mais ameaçado do país. A Mata Atlântica abrangia originalmente 1.309.736 km<sup>2</sup> e 17 estados, onde habitam mais de 145 milhões de pessoas, o que equivale a 72% da população brasileira (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2019). Mesmo com a reduzida área de vegetação original, a Mata Atlântica ainda passa por grandes níveis de desflorestamento, e o estado da Bahia, no período 2018/2019, registrou um aumento de 78% de desmatamento em relação ao biênio anterior, com acréscimo de 54% em 2020/2021 e 15% em 2021/2022 (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2020; 2022; 2023).

O alto grau de fragmentação da Mata Atlântica, unido aos impactos ocasionados pelas mudanças climáticas, alerta para a necessária manutenção da biodiversidade em remanescentes florestais, a fim de que haja conservação das espécies que fazem parte deste bioma, já que existe uma interdependência entre elas (COSTA; GALVÃO; SILVA, 2019; ESSER; NEVES; JARENKOW, 2019). Mesmo com a forte pressão do desmatamento, trata-se de um dos domínios fitogeográficos do Brasil que mais possui registro de espécies da família Bromeliaceae Juss. (FORZZA et al., 2023).

Bromeliaceae pertence à ordem Poales (APG IV, 2016), compreendendo 82 gêneros e 3.764 espécies, sendo que destas, 1.713 são encontradas no Brasil (GOUDA; BUTCHER; DIJKGRAAF, 2023). Dentre os gêneros, *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. pertence a subfamília Bromelioideae e possui 55 espécies, das quais apenas duas não são endêmicas do Brasil, *H. andina* Betancur, endêmica da Colômbia e *H. stellata* Schult. & Schult.f., encontrada também em Trindade e Tobago, Venezuela e Antilhas (SMITH; DOWNS, 1979; GONÇALVES-OLIVEIRA; MARTINS; WANDERLEY, 2023; GOUDA; BUTCHER; DIJKGRAAF, 2023).

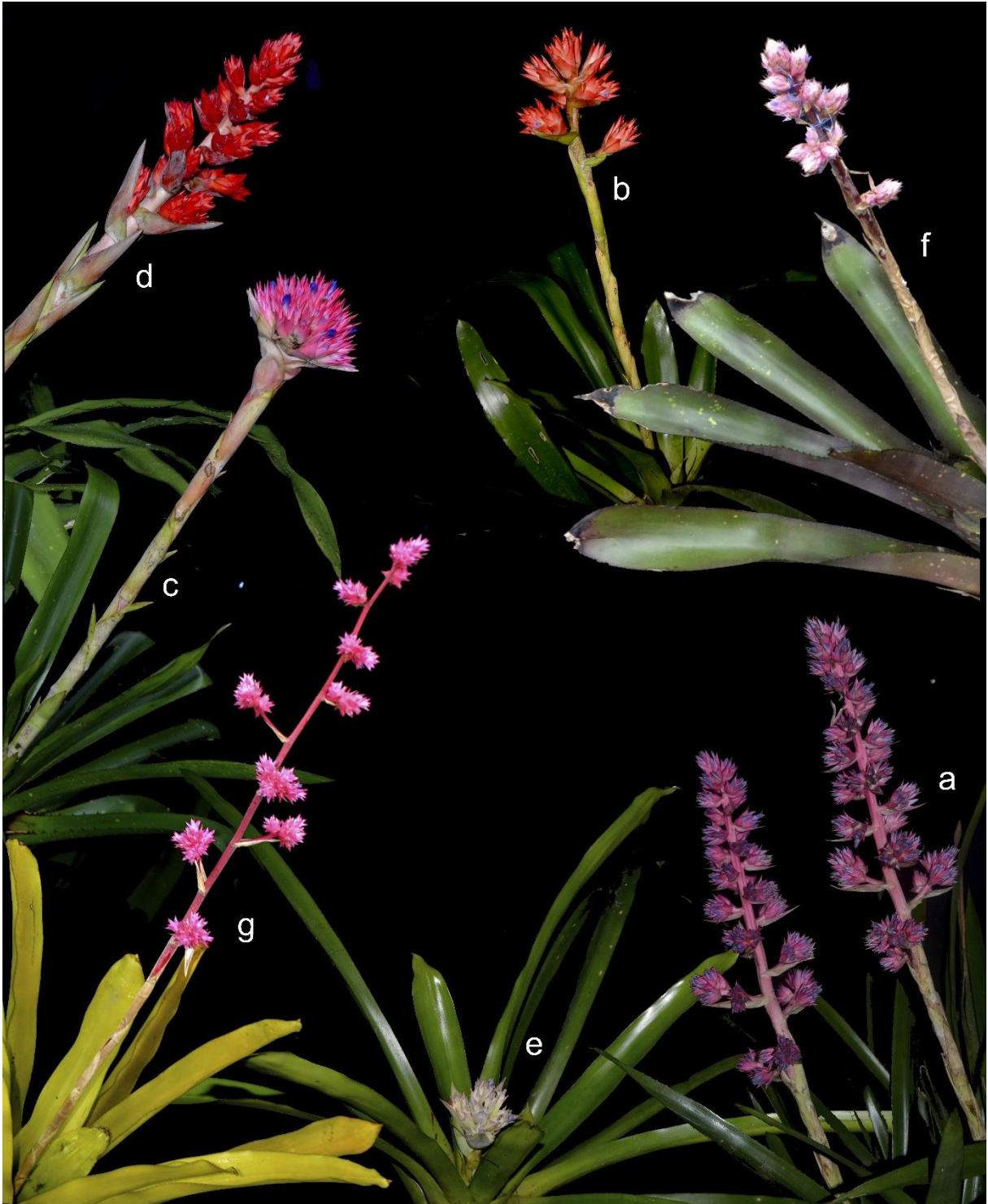
Bromeliaceae frequentemente apresentam espécies com tanques formados pelas bainhas foliares imbricadas, constituindo um micro-habitat em suas estruturas e permitindo que outros organismos obtenham condições ideais para sobrevivência, o que confere a elas importantes interações ecológicas (ROCHA et al., 2000). As plantas podem ser ambientes para reprodução, planta berçário, forrageamento, fonte de água, sítio de germinação, além de atender a diversos tipos de polinizadores devido à sua diversidade floral, que abrange desde flores com características mais singulares até aquelas que atraem com seu tamanho e cor (ROCHA et al., 2004). Outro destaque refere-se a algumas espécies serem indicadoras de qualidade ambiental, como no caso das espécies de *Tillandsia* L. ocorrentes em grandes centros urbanos (KRÖMER et al., 2014).

Uma avaliação das espécies da flora do Brasil ameaçadas de extinção constatou que Bromeliaceae possui o maior número de espécies dentre as consideradas 'Criticamente em Perigo' (MARTINELLI et al., 2013). De acordo com Rocha et al. (2004), os principais motivos que têm diminuído as populações desta família são: associação equivocada das bromélias com problemas de saúde pública,

extrativismo predatório ou seletivo e destruição de habitats devido à ação antrópica. Por essa ameaça e por sua importância nos ambientes, há uma demanda na criação de estratégias de conservação das espécies de Bromeliaceae a fim de desacelerar o número de ameaças de extinção ocorrentes (BRASIL, 2022).

Para a elaboração de um plano de manejo e conservação, é importante que haja o estudo sobre aspectos da biologia floral, reprodutiva e fenologia das espécies, a fim de compreender a dinâmica espaço-temporal dos recursos disponíveis no meio e sua relação com os animais associados (TALORA; MORELLATO, 2000), auxiliando no entendimento de aspectos ligados à manutenção do fluxo gênico entre espécies, reprodução, partilha e competição por polinizadores (MACHADO; LOPES, 2002).

Este trabalho tem por objetivo estudar a biologia floral, reprodutiva, fenologia e interação com visitantes florais de espécies do gênero *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) encontradas em fragmentos florestais da Mata Atlântica do estado da Bahia (Figura 1). O estudo realizado foi dividido nesta dissertação em dois capítulos que abrangem aspectos reprodutivos e morfologia de partes florais de espécies de *Hohenbergia*, além de aspectos do seu ciclo de vida e interação com agentes polinizadores.



**Figura 1.** Espécies de *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae: Bromelioideae). a) *H. amargosensis* E. H. Souza & Leme. b) *H. belemii* L.B.Sm. & Read. c) *H. capitata* Schult. & Schult.f. d) *H. ituberaensis* B.P. Cavalcante, E.H. Souza & Versieux. e) *H. nidularioides* B.P. Cavalcante, E.H.Souza, A.P. Martinelli & Versieux. f) *H. rosea* L.B.Sm. & Read. g) *H. stellata* Schult. & Schult.f.

O primeiro capítulo intitulado “Morfologia, viabilidade polínica e receptividade do estigma de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) ocorrentes na Mata Atlântica”, teve por objetivo caracterizar aspectos da morfologia e viabilidade dos grãos de pólen e receptividade do estigma de sete espécies de *Hohenbergia*

ocorrentes na Mata Atlântica, *H. amargosensis* E. H. Souza & Leme, *H. belemii* L.B.Sm. & Read, *H. capitata* Schult. & Schult.f., *H. ituberaensis* B.P. Cavalcante, E.H. Souza & Versieux, *H. nidularioides* B.P. Cavalcante, E.H. Souza, A.P. Martinelli & Versieux, *H. rosea* L.B.Sm. & Read e *H. stellata* Schult. & Schult.f. (Figura 1). Os grãos de pólen foram analisados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e submetidos à acetólise láctica (ACLAC 40) para avaliar a morfologia polínica, além da quantificação de grãos de pólen. Adicionalmente, foram realizados testes de viabilidade polínica a partir da germinação in vitro dos grãos de pólen em meios de cultura BM e SM, testes histoquímicos com solução de Alexander e diacetato de fluoresceína bem como a avaliação da receptividade do estigma com peróxido de hidrogênio e  $\alpha$ -naftil-acetate + fast blue B salt nos diferentes estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese).

O segundo capítulo intitulado “Fenologia e estudos reprodutivos de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) ocorrentes na Mata Atlântica”, tem como objetivo caracterizar os padrões fenológicos de desenvolvimento vegetativo, floração e frutificação de *H. amargosensis* e *H. stellata* em fragmentos da Mata Atlântica, bem como a relação com os agentes polinizadores. Adicionalmente, foi realizado um estudo do comportamento reprodutivo de outras cinco espécies de *Hohenbergia* (*H. belemii*, *H. capitata*, *H. ituberaensis*, *H. nidularioides* e *H. rosea*). Para isso foram realizadas visitas periódicas nos fragmentos florestais de ocorrência de *H. amargosensis* e *H. stellata* com observação do desenvolvimento das plantas em cada estádio (ramo lateral, planta jovem, planta adulta, floração, frutificação e senescência) a fim de obter um panorama do seu crescimento e desenvolvimento. Houve também o registro dos visitantes florais e coleta de néctar em intervalos de três horas, durante o dia, para correlacionar com os agentes polinizadores e sua interação com as espécies em estudo. Além disso, foram avaliados diferentes sistemas reprodutivos (agamospermia, autopolinização espontânea, autopolinização manual, geitonogamia, polinização cruzada e polinização natural) em *H. amargosensis*, *H. belemii*, *H. capitata*, *H. ituberaensis*, *H. nidularioides*, *H. rosea* e *H. stellata*. Os pistilos foram submetidos à microscopia de fluorescência com filtro ultravioleta para identificar os sistemas reprodutivos e avaliar as possíveis barreiras reprodutivas, observando a germinação dos grãos de pólen e crescimento do tubo polínico.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Bromeliaceae

Bromeliaceae são ervas com raízes absorventes ou apenas fixadoras, raramente ausentes, caule pouco desenvolvido, geralmente com entrenós curtos (BENZING, 2000; FORZZA, et al., 2013; 2023; VASCONCELLOS; OLIVEIRA, 2019). Suas folhas são alternas-espiraladas, rosuladas ou mais raramente alternas-dísticas, podendo formar ou não tanque acumulador de água. São comumente recobertas por tricomas peltados especializados em absorver umidade e nutrientes (BENZING, 2000; VASCONCELLOS; OLIVEIRA, 2019).

As bromélias possuem inflorescência geralmente racemosa, seja simples ou composta, às vezes terminal, brácteas em sua maioria coloridas, flores com variadas combinações de coloração, numerosas a poucas, anteras biesporangiadas ou uniesporangiadas, simetria actinomorfa ou levemente zigomorfa, trímeras, hipóginas a epíginas, podendo estar unida a uma bráctea normalmente vistosa, com a função de atrair polinizadores (CRONQUIST, 1981; DAHLGREN et al., 1985; WANDERLEY; MARTINS, 2007; GIVNISH et al., 2014).

As pétalas e sépalas podem ser conadas ou livres, com apêndices petalíneos ou não. Estames em número de seis, diplostêmones, podendo ser livres ou adnatos às pétalas, formando um tubo pelo concrecimento dos filetes ou não. As anteras são tetrasporangiadas, bitecas, com deiscência rimosa (BENZING, 2000; WANDERLEY; MARTINS, 2007; OLIVEIRA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2020).

Os grãos de pólen possuem grande variação quanto ao padrão de abertura, sendo encontrados exemplares porados (duas a muitas aberturas), monosulcados ou inaperturados (WANDERLEY; MELHEM, 1991; HALBRITTER, 1992; SMITH; TILL, 1998; SILVA et al., 2016; LEME et al., 2021; MOTA et al., 2024). O gineceu é gamocarpelar, de ovário súpero, ínfero ou semi-ínfero, tricarpelar, trilocular com estilete terminal trifido (NOGUEIRA et al., 2015; KUHN et al., 2016). O estigma é caracteristicamente formado por três lobos espiralados, possuindo dezenove variações denominadas de conduplicado-espiral, conduplicado-ereto, conduplicado-patente, conduplicado-pinatissecto, simples-ereto, simples-truncado, simples-pinatissecto, simples-patente, simples-dilatado, simples-imbricado, cilíndrico-distante, laminar-convoluto I, laminar-convoluto II, coraliforme, convoluto-obcônico, convoluto-guarda-chuva, cupulado, urceolado e tubo-laciniado (BARFUSS et al., 2016; LEME et al., 2022; SIQUEIRA; COSTA; TONI, 2023).

Os óvulos encontram-se com placentação axilar, em quantidade escassa ou numerosa. Muitas espécies possuem frutos tipo cápsulas loculicidas/ septícidas, normalmente de ovário súpero, sendo a subfamília Bromelioideae a única com frutos bacáceos, sementes em geral numerosas, podendo ter apêndices plumosos, caudados, aliformes ou apresentar mucilagem como frequentemente ocorre em Bromelioideae, incluindo *Hohenbergia* (CRONQUIST, 1981; DAHLGREN et al., 1985; WANDERLEY; MARTINS, 2007; FAGUNDES; MARIATH, 2014; KUHN et al., 2016; CARVALHO et al., 2023). São caracterizadas por terem representantes terrícolas, rupícolas, epífitas, epilíticas e reófitas, estabelecidas nos ambientes mais diversos devido à alta capacidade adaptativa (FORZZA, et al., 2013; FORZZA, et al., 2023). Uma importantes característica representa apomorfia para este grupo vegetal, já que não existe em nenhuma outra família da ordem Poales, é o metabolismo ácido das crassuláceas-CAM (CRAYN; WINTER; SMITH, 2004).

Bromeliaceae possui uma riqueza de espécies e se destacam dentre os grupos vegetais neotropicais, principalmente devido ao potencial adaptativo a diferentes habitats, desde ambientes úmidos como as florestas tropicais amazônicas até secos como o deserto do Atacama (ZIZKA et al., 2019). Possivelmente, a origem desta família botânica ocorreu no escudo da Guiana a 70 milhões de anos, dispersando-se por sementes a aproximadamente 20 milhões de anos pela América Central e América do sul, alcançando também a África Ocidental, mais especificamente na Guiné com a espécie *Pitcairnia feliciana* (A.Chev.) Harms & Mildbr (GIVNISH et al., 2007; 2011).

As subfamílias de Bromeliaceae são linhagens com diferentes distribuições geográficas, sendo algumas restritas às áreas específicas como as Brocchinioideae, Lindmanioideae e Navioideae no sul da Venezuela e norte da Amazônia e as Hechtioideae em regiões mais secas do México. Já as Bromelioideae, Pitcairnioideae e Tillandsioideae possuem uma amplitude em sua distribuição, difundindo-se na região Neotropical (GIVNISH et al., 2011; ZIZKA et al., 2019).

Bromeliaceae possui centros de diversidade no norte dos Andes, Mata Atlântica, América Central e partes do México, além disso foram registrados centros de endemismo na Mata Atlântica, Andes, México Central e partes da Venezuela (ZIZKA et al., 2019). No Brasil, país onde são encontradas mais de 45% das espécies dessa família, existe alto índice de endemismo, principalmente na Mata Atlântica (LEME; MARIGO, 1993; GIVNISH et al., 2011; GOUDA; BUTCHER; DIJKGRAAF, 2023).

Conforme a Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção do Brasil, Portaria MMA N°. 148, de 07 de junho de 2022, existem 247 espécies de Bromeliaceae ameaçadas de extinção no Brasil, sendo que destas, 40 encontram-se como vulneráveis, 142 em perigo e 65 criticamente em perigo (BRASIL, 2022). Dados de Forzza et al. (2023) revelam que esta família vegetal se encontra como a segunda em quantidade de táxons na lista nacional oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção, ocupando a primeira posição em número de espécies 'Criticamente em Perigo'. Vale destacar que a grande maioria das espécies desta família ainda não foram avaliadas quanto ao risco de ameaça e esses valores ainda estão subestimados.

Trabalhos indicam a importância de Bromeliaceae em múltiplas funções ecossistêmicas, que variam entre suporte à biodiversidade (servindo como habitat, forrageamento, reprodução, refúgio, além de manter relação mutualística com polinizadores), ciclagem de nutrientes, apoio à diversidade genética, utilização em produtos químicos e farmacêuticos (enzima bromelina), fornecimento de alimentos e fibras ao ser humano, apreciação estética (uso ornamental), herança cultural e ritualística, regulação de doenças, regulação de água, e captura de dióxido de carbono e metano (CRUZ et al., 2016; TSUDA; CASTELLANI, 2016; LADINO et al., 2019; ROMERO et al., 2020; SRIVASTAVA, 2020; CAMPOS et al., 2020; LOPES FILHO et al., 2023). Todas estas indicações reforçam a grande importância das ações de conservação das bromélias.

### ***Hohenbergia***

*Hohenbergia* foi nomeado por Schultes e Schultes em 1830 em homenagem ao Príncipe de Württemberg (antigo reino, agora parte de Baden-Württemberg, Alemanha), um botânico Alemão que viajou para as Américas com o pseudônimo de Barão de Hohenberg (GOUDA; BUTCHER; DIJKGRAAF, 2023). Inicialmente o gênero foi composto por cinco espécies: *H. stellata* Schult. & Schult.f., *H. capitata* Schult. &



Schult.f., *H. strobilacea* (Schult. & Schult.f.) Klotsch, *H. fasciata* (Lindley) Schult. & Schult.f. e *H. billbergioides* Schult. & Schult.f., sendo que dessas, apenas a *H. stellata* permaneceu no grupo (SCHULTES; SCHULTES, 1830). *Hohenbergia capitata* foi estabelecida como *Aechmea capitata* por Baker (1879) e reestabelecida como *H. capitata* por Leme (2010).

Anos depois, Mez (1896) propôs uma divisão para o gênero em dois subgêneros: *Euhohenbergia* e *Wittmackiopsis*. O autor utilizou como atributos principalmente a morfologia dos óvulos e cor das pétalas. Posteriormente, o gênero passou a ser dividido em *Hohenbergia* subg. *Hohenbergia* e *Hohenbergia* subg. *Wittmackiopsis*. Nesta classificação, o subg. *Hohenbergia* incluiu 20 espécies endêmicas do Brasil (incluindo o tipo *H. stellata*) e o subg. *Wittmackiopsis* composto por 19 espécies distribuídas por Cuba, Porto Rico, Jamaica, Caribe e Colômbia (SMITH; DOWNS, 1979). Após estudos filogenéticos e morfológicos o subgênero *Wittmackiopsis* foi considerado uma linhagem monofilética externa a *Hohenbergia* e reclassificada como o gênero *Wittmackia*, tendo como uma das principais diferenças os apêndices dos rudimentos seminiais (óvulos), que são apendiculados apenas em *Hohenbergia* (AGUIRRE-SANTORO, 2018).

*Hohenbergia* é um dos principais gêneros da subfamília Bromelioideae (Bromeliaceae) (SMITH; DOWNS, 1979). No Brasil, há a ocorrência de 54 espécies, sendo 53 endêmicas do país, concentrando-se principalmente na região costeira. Destas, 21 espécies são encontradas apenas na Mata Atlântica da Bahia, destacando o estado como o território de maior diversidade em espécies deste gênero (GONÇALVES-OLIVEIRA; MARTINS; WANDERLEY, 2023).

Também se encontram na Bahia as três espécies de *Hohenbergia* ameaçadas de extinção, e que se encontram na Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção do Brasil, Portaria MMA Nº 148 de 07 de junho de 2022. Conforme esta Portaria, dois táxons deste gênero são reconhecidos como 'Em Perigo', *Hohenbergia littoralis* L.B.Sm. e *Hohenbergia castellanosis* L.B.Sm. & Read, e uma espécie como ' criticamente em Perigo', *Hohenbergia correia-araujoi* E.Pereira & Moutinho (BRASIL, 2022; GOUDA; BUTCHER; DIJKGRAAF, 2023). Vale destacar que muitas espécies foram descritas nos últimos cinco anos e não estão nas listas oficiais de ameaça, apenas avaliadas pelos autores nos próprios manuscritos, conforme critérios da lista vermelha de espécies ameaçadas da International Union for Conservation of Nature - IUCN (2020). São elas: *H. densa* B.P.Cavalcante ['Quase ameaçada' (NT)] (CAVALCANTE; SILVA, 2021); *H. ituberaensis* B.P.Cavalcante, E.H.Souza & Versieux ['Vulnerável' (VU)] (CAVALCANTE et al., 2020); *H. erecta* B.P.Cavalcante, Versieux & A.P.Martinelli ['Em Perigo' (EN)] (CAVALCANTE et al., 2022); *H. amargosensis* E.H.Souza & Leme, *H. nidularioides* B.P.Cavalcante, E.H.Souza, A.P.Martinelli & Versieux e *H. ymboreorum* E.H.Souza & B.P.Cavalcante [' criticamente em Perigo' (CR)] (CAVALCANTE et al., 2021; CAVALCANTE; AONA; SOUZA, 2022; SOUZA et al., 2022).

As espécies de *Hohenbergia* são caracterizadas por apresentarem bom desempenho na reprodução sexuada, porém com maior estimativa de reprodução assexuada com emissão de ramos laterais, sem ramificações, originados de gemas axilares (BARACHO, 1997; BENZING, 2000). Esse gênero é caracterizado por plantas terrestres ou epífitas, caulescentes, possuindo folhas membranáceas nos representantes jovens ou subcoriáceas a coriáceas nos adultos, com bainha variando de estreita a larga e diferentes tons de esbranquiçado a castanho-escuro (DOWNS, 1974; SMITH; DOWNS, 1979; GONÇALVES-OLIVEIRA; MARTINS; WANDERLEY, 2023).

As lâminas foliares são liguladas ou subtriangulares, geralmente concolores (esverdeadas, verde-cinéreas, amareladas, castanho-escurecidas, castanho-avermelhadas ou purpúreas), raramente discolores com listras ou máculas em tons de púrpura. Acúleos nas margens foliares castanhos ou pretos, antrorsos, patentes ou retrorsos; ápice foliar mucronado; inflorescência racemosa, composta, podendo chegar a 2/3 da altura da planta, pauciflora ou multiflora, piramidais ou cilíndricas, ereta ou pendente, com flores agrupadas em espigas. Espigas globosas, ovoides, elipsoide/ cilíndrica ou subcilíndrica, fasciculadas ou densamente agregadas, glabras ou lanadas. Brácteas florais evidentes, na maioria das vezes cobrindo o ovário e as sépalas (SMITH; DOWNS, 1979; GONÇALVES-OLIVEIRA; MARTINS; WANDERLEY, 2023).

Os indivíduos deste gênero apresentam flores sésseis ou subsésseis; sépalas assimétricas, livres ou curtamente conatas, com margem contendo ala ou asa muitas vezes acompanhada de nervura evidente, geralmente hialina. As pétalas são espatuladas ou elipsoides, com apêndices petalíneos, formando uma corola com arquitetura tubular e ápice agudo a obtuso, raramente cuculado; apresenta variação de cor com registro de pétalas lilases, violáceas, azuláceas, purpúreas e, mais raramente, róseas, brancas, amarelas ou verdes; estames antipétalos parcialmente adnatos às pétalas; anteras amarelas ou alvas, elípticas; grãos de pólen em mônades, esféricos ou elipsóides, oblados, semitectados, reticulados, biporados a tetraporados; estigma alvo, flavo ou roxo, conduplicado-espiral; ovário ínfero; óvulos obtusos, caudados; fruto tipo baga e sementes recobertas por mucilagem (BROWN; GILMARTIN, 1989; HALBRITTER, 1992; SMITH; TILL, 1998; CAVALCANTE et al., 2019; GONÇALVES-OLIVEIRA; MARTINS; WANDERLEY, 2023).

### **Biologia floral e reprodutiva**

Diversas literaturas que tratam a respeito da biologia e morfologia floral de Bromeliaceae indicam a existência de variadas características de sistemas de cruzamento (MARTINELLI, 1994; CULLEY; KLOOSTER, 2007; MATAALLANA et al., 2010; ZANELLA et al., 2012; BASTOS et al., 2017; SOUZA et al., 2017a; CAVALCANTE et al., 2019; MOTA et al., 2023), podendo ser autocompatível, autoincompatível, autógamo, potencialmente alógamo ou cleistógamo. Sendo a autoincompatibilidade a característica reprodutiva mais encontrada na família (MATAALLANA et al., 2010; GIVNISH et al., 2014; SOUZA et al., 2017a; MOTA et al., 2023).

Estudos indicam que algumas espécies de Bromeliaceae realizam a autogamia como um mecanismo de barreira reprodutiva para evitar a polinização com grãos de pólen de outras flores (MATAALLANA et al., 2010; NERI et al., 2017; SOUZA et al., 2017a; MOTA et al., 2023). Nestas plantas, ocorre a contaminação do gineceu pela autopolinização, geralmente na pré-antese (MARTINELLI, 1994; ANDERSON, 2012), impedindo a deposição dos grãos de pólen heteroespecíficos, já que a superfície do estigma se encontra parcialmente ou totalmente coberta (SCHIFINO-WITTMANN; DALL AGNOL 2002; ANDERSON, 2012). Outros autores relatam a ocorrência de dicogamia e heterostilia, ambas barreiras reprodutivas para a autopolinização, o que promove a alogamia (BENZING, 2000). Há ainda a protoginia, quando o gineceu está pronto para ser fecundado, porém os grãos de pólen ainda não se encontram maduros, característica do gênero *Tillandsia* (GARDNER, 1986).

Trabalhos sobre as barreiras reprodutivas pré e pós-zigóticas ocorrentes em Bromeliaceae destacam, dentre os principais fatores encontrados, aqueles

relacionados à autoincompatibilidade gametofítica, divergência entre o comprimento do estilete e do tubo polínico, inviabilidade, aspectos morfológicos e morfométricos dos grãos de pólen, insuficiência de nutrientes e umidade no estigma (impede a germinação dos grãos de pólen), deficiência em fatores ligados ao quimiotropismo na região da micrópila (falta estímulo para o crescimento do tubo polínico) e diferença temporal entre a receptividade do estigma e a polinização (VAN TUYL; DE JEU, 1997; VERVAEKE et al., 2001; 2002; MATAALLANA et al., 2016; SOUZA et al., 2017a; MOTA et al., 2023). Alguns desses estudos, a fim de alcançar o sucesso da fecundação, apresentam técnicas para superar as barreiras reprodutivas, envolvendo polinização com o estilete cortado, polinização no eixo placentário e a enxertia de estilete (VAN TUYL; DE JEU, 1997; VERVAEKE et al., 2001; 2002).

Para verificar o sucesso ou não da polinização, um dos métodos utilizados é a observação da presença de calose nos tubos polínicos. Para isso, é adicionado uma solução de azul de anilina ao gineceu e observado em microscopia de fluorescência com filtro ultravioleta. Estudos em Bromeliaceae com esta técnica demonstram o crescimento do tubo polínico em diferentes tipos de polinização e em hibridações interespecíficas e intergenéricas (SOUZA et al., 2017a; MOTA et al., 2023). Nestes estudos, o sucesso reprodutivo é constatado com o crescimento e penetração dos tubos polínicos na micrópila com deposição regular de calose. Do mesmo modo, o insucesso reprodutivo é observado em amostras com enovelamento ou paralização do tubo polínico no estilete e com deposição irregular de calose no tubo polínico. Essas características revelam possíveis barreiras gametofíticas nas espécies ou incongruências em caso de hibridações (SOUZA et al., 2017a; MOTA et al., 2023).

Em busca de sucesso reprodutivo as plantas utilizam como estratégia a produção de flores em quantidade, cores, formas e aromas diversos, com o objetivo principal de atrair polinizadores específicos (HOWE; WETTLEY, 1997) e que estes tenham interesse em retornar à flor, já que um maior número de visitas florais reflete em maior probabilidade de sucesso da fecundação e consequente número de sementes (PAGGI et al., 2007). Desta forma, trabalhos sobre biologia reprodutiva de Bromeliaceae devem considerar tanto a ação de espécies associadas (visitantes e polinizadores), quanto a unidade funcional da polinização (grãos de pólen) (PACINI; HESSE, 2004; SOUZA et al., 2015).

Dentre os principais agentes polinizadores da família, são encontrados exemplares de morcegos, esfingídeos, abelhas e beija-flores (BENZING, 2000; ARAÚJO et al., 2004; SIQUEIRA-FILHO; LEME, 2006; GIVNISH et al., 2014). Apesar das abelhas serem registradas visitando bromélias de diversas espécies, tanto sendo oportunistas como polinizadoras efetivas, os beija-flores (ornitofilia) são considerados os agentes com maior potencial de polinização (BENZING, 2000; NARA; WEBBER, 2002; ARAÚJO et al., 2004; LENZIN; MATOS; ORTH, 2006; SIQUEIRA-FILHO; LEME, 2006; KAMKE et al., 2011; GIVNISH et al., 2014; BASTOS et al., 2017;). Bromeliaceae é um dos poucos grupos em que a polinização realizada por vertebrados é maior que por insetos (ARAÚJO et al., 1994).

Conhecer a biologia floral e reprodutiva de espécies vegetais permite compreender a interação planta-polinizador, detalhando aspectos da organização espaço-temporal dos recursos disponíveis no ambiente estudado (TALORA; MORELLATO, 2000), assim como a morfologia e comportamento dos grãos de pólen (CHAGAS et al., 2010; SOUZA et al., 2015), o que contribui com a criação de estratégias para conservação de ambientes naturais (MACHADO; LOPES, 2002). Dentre os recursos florais, dois deles destacam-se pela preferência dos visitantes e polinizadores, os grãos de pólen (TAGLIATI; OLIVEIRA; FARIA, 2018) e o néctar, que

por fornecer água e energia é o mais requerido (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979). Referente ao néctar, é necessário conhecer seu volume e composição para entender as estratégias de recompensa floral.

No processo de fecundação, é essencial saber se o grão de pólen está viável, atributo fundamental para ações de conservação, melhoramento genético e produção agrícola (SANTOS et al., 2015). A viabilidade polínica pode ser determinada por métodos diretos, através da germinação in vitro (DUTRA et al., 2000; PARTON et al., 2002; GOMES et al., 2003; PIO et al., 2007; SOUZA et al., 2015; MOTA et al., 2024) ou in vivo (OLIVEIRA; MAUÉS; KALUME, 2001; SOUZA et al., 2015; 2017a; MOTA et al., 2023), assim como métodos indiretos, com base em características citológicas, como a coloração dos grãos por testes histoquímicos para verificar a atividade enzimática ou a presença de substâncias químicas (SHIVANNA; RANGASWAMY, 1992; KEARNS; INOUE, 1993; SOUZA et al., 2015; MOTA et al., 2024). Com exceção da germinação in vivo, as outras metodologias não garantem a fertilização dos óvulos, mas são indicativos de viabilidade com alto nível de confiança, a depender do corante utilizado (EINHARDT et al., 2006; SOUZA et al., 2015).

Para o teste histoquímico, os corantes mais utilizados são o carmim acético, solução de Alexander, sudan IV, azul de anilina, azul de algodão, iodeto de potássio (STANLEY; LINSKENS, 1974; MOTA et al., 2024), 2,3,5-cloreto-de-trifeniltetrazólio (DERIN; ETI, 1999) e diacetato de fluoresceína (MARTINELLI, 2012; MOTA et al., 2024). Estes, quando entram em contato com os grãos de pólen, proporcionam variações na cor e reações enzimáticas específicas, indicando a viabilidade ou não.

A germinação in vitro dos grãos de pólen permite analisar a emissão do tubo polínico e determinar a viabilidade (MARCELLÁN; CAMADRO, 1996; JAYAPRAKASH; SARLA, 2001; SOUZA et al., 2015; SOUZA et al., 2017b). Para alcançar resultados confiáveis é necessário que o meio de cultura utilizado siga um protocolo específico, levando em consideração fatores como pH, condições de incubação, e tenha em sua composição substâncias como: carboidratos (fornece energia, equilíbrio osmótico do grão de pólen e promove o desenvolvimento do tubo polínico) (STANLEY; LINSKENS, 1974), ácido bórico (atua no crescimento do tubo polínico e minimiza as chances de rompimento) (FRANZON; RASEIRA, 2006), nitrato de cálcio (nutriente relacionado aos atributos fisiológicos, redução da sensibilidade dos grãos de pólen ao meio, assim como a promoção da rigidez e crescimento do tubo polínico em formato linear) (STANLEY; LINSKENS, 1974), além de micronutrientes e hormônios que podem ser introduzidos (BREWBAKER; KWACK, 1963; PIO et al., 2007; SOARES et al., 2008).

Análises da caracterização morfológica dos grãos de pólen são realizadas por meio de técnicas como a microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Para isso, é necessária a adoção de tratamentos para a limpeza e permitir a melhor observação da morfologia, ornamentação e outros detalhes específicos dos grãos (HESSE et al., 2009). Uma metodologia que atende a essa exigência para a microscopia de luz é a acetólise. Nela são utilizadas substâncias ácidas para dissolver o conteúdo do grão de pólen e conservar apenas a morfologia da exina para visualização (ERDTMAN; SORSA, 1952; ERDTMAN, 1960; SALGADO-LABOURIAU, 1971). Em grãos de pólen de Bromeliaceae, devido à fragilidade de suas estruturas e possibilidade de deformação provocada durante a acetólise, é recomendado a utilização da técnica de acetólise láctica (RAYNALD; RAYNALD, 1971) com modificações (WANDERLEY; MELHEM, 1991).

Para que haja a fertilização, com formação de frutos e sementes é necessário, além da viabilidade polínica, que o estigma esteja receptivo para a aderência e

desenvolvimento dos grãos de pólen sobre sua superfície. Este desempenho pode ser um dos fatores determinantes na taxa de autopolinização e no sucesso da polinização (STONE et al., 1995; SOUZA et al., 2016). O melhor momento para a deposição dos grãos de pólen sobre o estigma pode ser indicado por duas principais metodologias. Ao utilizar o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) no estigma, há a indicação da receptividade com a presença da enzima peroxidase, quando se observa a formação de bolhas de ar. Além disso, a reação de  $\alpha$ -naftil-acetate com *fast blue B salt*, ao interagir com a enzima esterase, cora os estigmas receptivos de marrom escuro a preto (KEARNS; INOUE, 1993).

## Fenologia

Estudos de fenologia com vegetais buscam caracterizar eventos biológicos repetitivos e apresentar a relação existente entre eles, suas fases e as pressões externas que atuam em determinado local (LIETH, 1974; SIQUEIRA-FILHO; MACHADO, 2004; MENEZES et al., 2020; SILVA et al., 2023). Os resultados demonstram um panorama de acontecimentos bióticos e abióticos que interferem no ciclo biológico da espécie estudada, em determinado período, principalmente quando ela se encontra *in situ* (LIETH, 1974; SIQUEIRA-FILHO; MACHADO, 2004; PEREIRA; QUIRINO, 2008; MENEZES et al., 2020; SILVA et al., 2023).

Em pesquisas fenológicas são reunidas informações sobre a época e duração da floração, frutificação, dispersão e emissão foliar, relacionando-as a fatores climáticos e ecológicos (PINTO et al., 2005, 2008). Desse modo, a fenologia caracteriza parte do ciclo de vida das plantas e a organização temporal e espacial de recursos disponíveis, tanto florais quanto os frutos (LIETH, 1974, NEWSTROM; FRANKIE; BAKER, 1994). Além disso, os dados fenológicos apontam os ciclos de crescimento da planta e o melhor tempo para coleta de frutos e sementes.

Ao tratar dos aspectos abióticos, a fenologia demonstra por exemplo os impactos das mudanças climáticas em ecossistemas terrestres, quando indica variação no comportamento de espécies vegetais em decorrência de alterações ambientais (SCHWARTZ, 1999; FITTER; FITTER, 2002; MENZEL et al., 2006; NATERCIA, 2006). Oscilações no ciclo de uma planta podem causar consequências danosas à biodiversidade, às interações bióticas e à agricultura (MENZEL et al., 2006; RUBIM et al., 2010). Tais mudanças, quando afetam o período de floração, podem diminuir as chances de ação dos polinizadores por dessincronização entre o ciclo da planta e animais, provocando grandes impactos nos ecossistemas (NATERCIA, 2006).

A radiação adaptativa que ocorreu em Bromeliaceae selecionou indivíduos que sobreviveram a diferentes nichos em diversos ambientes, desde campos ensolarados até matas úmidas (GIVNISH et al., 2011), ocupando tanto locais em nível do mar quanto em montanhas acima de 4.000 m de altitude, independentemente de serem xéricos ou méxicos (BENZING, 2000; SMITH; DOWNS, 1974). A possibilidade de se desenvolver e reproduzir em múltiplos habitats é fruto das estratégias adaptativas de Bromeliaceae, como tricomas peltados, formação de fitotelmo, associações ecológicas, além da presença de fotossíntese C3 ou CAM (MEDINA, 1974; SMITH; DOWNS, 1974; STEBBINS, 1967; WINTER; SMITH, 1996; BENZING, 2000; CRAYN; WINTER; SMITH, 2004).

Outro importante mecanismo de adaptação destas plantas é a forma de propagação que pode ser tanto assexuada (gemas), quanto sexuada (sementes). Em muitas espécies, ambos os modos de propagação ocorrem de forma natural, porém o primeiro em maior proporção que o segundo (AOYAMA; GONTIJO; FARIA, 2012).

Como vantagens, a reprodução assexuada permite que populações pequenas, com sucesso reprodutivo comprometido, como o declínio de polinizadores, consigam propagar-se em múltiplos indivíduos (CAETANO; CORTEZ, 2014). Já a reprodução sexuada permite principalmente o aumento da recombinação gênica, possibilitando uma progênie competitivamente superior, além de evitar a homozigose e expressão de genes recessivos deletérios (OLIVEIRA; MARUYAMA, 2014).

A análise das fenofases de Bromeliaceae ocorre em eventos distintos da planta, sendo estes os estádios de desenvolvimento de novas folhas (surgimento de pequenas folhas brilhantes de coloração verde-clara ou avermelhada), a floração (surgimento da inflorescência), o período reprodutivo (antese), frutificação (fruto verde), dispersão (fruto maduro), e senescência (folhas com tons amarelados a amarronzados) (FIGUEIREDO, 2005; MARQUES; LEMOS-FILHO, 2008). Pesquisas em fenologia de Bromeliaceae são desenvolvidas tanto em nível específico (NARA; WEBER, 2002; NEGRELLE; MURARO, 2006; PEREIRA; QUIRINO, 2008; ROCHA-PESSÔA; ROCHA, 2008; NUNES-FREITAS; ROCHA, 2011; LÓPEZ-LÓPEZ; PARRA-TABLA; MONDRAGÓN, 2021; VELÁSQUEZ-NORIEGA; KRÖMER; PACHECO, 2023), quanto em nível amplo, alcançando diferentes regiões (ARAÚJO; FISCHER; SAZIMA, 1994; MARTINELLI, 1997; MARQUES; LEMOS-FILHO, 2008; SANTANA; MACHADO, 2010; MARQUES et al., 2021).

Tomando por base Gentry (1974), Bromeliaceae apresenta três estratégias fenológicas (MARTINELLI, 1997). A disponibilidade regular (ou *steady state*), mais comum na família (CANELA; SAZIMA, 2003), é caracterizada por espécies que fornecem poucas flores em antese por dia, durante um longo período. A cornucópia, ocorre em plantas que produzem muitas flores, por um período longo, de até dez semanas. E a floração do tipo explosiva (ou “*Big Bang*”), ocorre quando muitas flores entram em antese ao mesmo tempo por curto período, de até três semanas (GENTRY, 1974).

A preferência de Bromeliaceae por comportamento tipo *steady state* foi verificada por estudos com diversas espécies (MARTINELLI, 1997; TSCHAPKA; HELVERSEN, 2007; BASTOS et al., 2017; RESTREPO-CHICA; BONILLA-GÓMEZ, 2017). Manter oferta de flores por um longo período garante disponibilidade de recursos a polinizadores por maior tempo e aumenta a chance de cruzamentos (MARTINELLI, 1997).

## REFERÊNCIAS

AGUIRRE-SANTORO, J. Taxonomic revision of the Caribbean-endemic species of *Wittmackia* (Bromeliaceae). **Phytotaxa**, Auckland, v. 336, n. 2, p. 101–147, 2018.

ANDERSON, M. **Plant Reproduction Growth and Ecology**. New York, Britannica Educational Publishing, 2012.

AOYAMA, E. M.; GONTIJO, A. B. P. L.; FARIA, D.V. Propagação em Bromeliaceae: germinação de sementes e cultivo in vitro. Enciclopédia Biosfera, **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.8, n.15, p. 1452-1471, 2012.

APG, Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v.181, p.1-20, 2016.

- ARAÚJO, A. C.; FISCHER, E. A.; SAZIMA, M. As bromélias na região do Rio Verde. *In*: MARQUES, O; DULEBA, W. **Estação ecológica Juréia-Itatins: ambiente físico, flora e fauna**. Holos editora. Ribeirão Preto. P. 162–172, 2004.
- ARAÚJO, A. C.; FISCHER, E. A.; SAZIMA, M. Floração sequencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região de Juréia, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira Botânica**, Brasília, v. 17, p. 113-118, 1994.
- BAKER, J.G. A Synopsis of the Genus *Aechmea*, R. & P. **Journal of Botany**, London, v.17, p.161-169, 1879.
- BARACHO, G.S. Propagação vegetativa em Bromeliaceae. **Bromélia**, São Paulo, v.3, n.2, p.22-27, 1997.
- BARFUSS, M. H. J.; TILL, W.; LEME, E. M. C.; PINZÓN, J. P.; MANZANARES, J. M.; HALBRITTER, H.; SAMUEL, R.; BROWN, G. K. Taxonomic revision of Bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. **Phytotaxa**, Auckland, v. 279, n. 1, p. 1–97, 2016.
- BASTOS, M. J. S. M; BASTOS, L. P.; SOUZA, E. H.; SOARES, T. L.; MORAIS, D. V.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C. Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, Alta Floresta, v. 31, p. 665-676, 2017.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation**. Cambridge University Press, Cambridge. 2000. 690 p.
- BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. **Portaria MMA nº 148, de 07 de junho de 2022**. DOU Nº 108 Seção 1, p.74, 08 de junho de 2022.
- BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal Botany**, Columbus, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.
- BROWN, G.K.; GILMARTIN, A.J. Chromosome numbers in Bromeliaceae. **American Journal of Botany**, Oxford. v. 76, p. 657-665, 1989.
- CAETANO, A. P. S.; CORTEZ, P. A. Reprodução assexuada. *In*: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRO, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização**. Editora Projeto Cultural. Rio de Janeiro. 2014.
- CAMPOS, D. A.; RIBEIRO, T. B.; TEIXEIRA, J. A.; PASTRANA, L.; PINTADO, M. M. Integral valorization of pineapple (*Ananas comosus* L.) By-products through a green chemistry approach towards Added Value Ingredients. **Foods**, West Lafayette, v. 9, n. 1, p. 60, 2020.
- CANELA, M. B. F.; SAZIMA, M. *Aechmea pectinata*: a Hummingbird-dependent Bromeliad with Inconspicuous Flowers from the Rainforest in South-eastern Brazil. **Annals of Botany**, Oxford, v. 92, p. 731-737, 2003.
- CARVALHO, J.D.T.; LEME, E. M. C.; MARIATH, J. E. A. The seed coat in the evolutionary context of Bromelioideae (Bromeliaceae): morphoanatomical diversity and ontogeny in the core and tankless lineages. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 7, p. 1-29, 2023.
- CAVALCANTE, B. P.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, E.H. *Hohenbergia ymboreorum* (Bromeliaceae): a new green-flowered bromeliad from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 567, n. 3, p. 278–286, 2022.

- CAVALCANTE, B. P.; SILVA, K. R.; PEREIRA, M. A.; SOUZA, E. H.; VERSIEUX, L. M.; MARTINELLI, A. P. Establishment of the *Hohenbergia capitata* complex (Bromeliaceae) with notes on leaf anatomy and description of a new endangered species. **Phytotaxa**, Auckland, v. 518, n. 3, p.119-126, 2021.
- CAVALCANTE, B. P.; SILVA, K. R.; SOUZA, E.H.; VERSIEUX, L.M.; MARTINELLI, A. P. *Hohenbergia erecta* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a new once-branched species from Chapada Diamantina, Bahia state, Brazil. **Tropical Plant Biology**, New York, v. 15, n. 4, p. 1-7, 2022.
- CAVALCANTE, B. P.; SILVA, M. F. *Hohenbergia densa* (Bromeliaceae), a new species from Rio Grande do Norte, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 520, n. 2, p. 203–208, 2021.
- CAVALCANTE, B. P.; SOUZA, E. H.; WILLIAMS, J. H.; VERSIEUX, L. M. Reproductive systems and post-pollination barriers between two closely related eu-bromelioids (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest of Brazil. **Botanical Journal of Linnean Society**, Oxford, v.192, p. 828–839, 2019.
- CAVALCANTE, B. P.; SOUZA, E.H.; VERSIEUX, L.M.; MARTINELLI, A. P. *Hohenbergia ituberaensis* (Bromeliaceae): a new white-flowered species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v.439, n. 2, p. 119-126, 2020.
- CHAGAS, E. A.; PIO, R.; CHAGAS, P. C.; PASQUAL, M.; NETO, J. E. B. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 231- 266, 2010.
- COSTA, A; GALVÃO, A; SILVA, L. G. Mata Atlântica brasileira: análise do efeito de borda em fragmentos florestais remanescentes de um hotspot para conservação da biodiversidade. **Geomae**, Campo Mourão, v.10, n.1, p.112-123, 2019.
- CRAYN, D. M.; WINTER, K.; SMITH, J. A. C. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. U.S.A., v. 101, p. 3703-3708, 2004.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. 2.ed. New York Botanical Gardens, New York, 1981. 1262 p.
- CRUZ, M. P.; CAVALCANTE, N. B.; SILVA, M. G.; ROLIM, L. A.; ALMEIDA, J. R. G. S. Biological activities and chemical composition of brazilian Bromeliaceae species – a systematic review. **Journal of Plant Sciences**, Heidelberg, v.4, n.6, p. 132-138, 2016.
- CULLEY, T. M.; KLOOSTER, M. R. The Cleistogamous Breeding System: A Review of Its Frequency, Evolution, and Ecology in Angiosperms. **The Botanical Review**, Lancaster, v. 73, n. 1, p. 1–30, 2007.
- DAHLGREN, R.; CLIFFORD, T. H.; YEO, P. E. **The families of the monocotyledons**: Structure, evolution and taxonomy. Springer-Verlag. Berlin, 1985. 100 p.
- DERIN, K.; ETI, S. Determination of pollen quality, quantity and effect of cross pollination on the fruit set and quality in the pomegranate. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ancara, v. 25, p. 169-173, 1999.



- DOWNS, R. J. Anatomy and physiology. In: SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, New York, v.14, n.1, pp. 609, 1974.
- DUTRA, G. A. P.; SOUSA, M. M.; RODRIGUES, R.; SUDE, C. P.; PEREIRA, T. N. S. Viabilidade em grãos de pólen fresco e armazenado em acessos de pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 729-730, 2000.
- EINHARDT, P. M.; CORREA, E. R.; RASEIRA, M. C. B. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen de pessegueiro. **Revista brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, p. 5-7, 2006.
- ERDTMAN, G. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Bot Tidskr**, v. 54, p. 561-564, 1960.
- ERDTMAN, G; SORSA, P. **Pollen morphology and plant taxonomy: An introduction to palynology**. Sweden: Almqvist & Wiksell, 1952.
- ESSER, L. F.; NEVES, D. M; JARENKOW, J. A. Habitat-specific impacts of climate change in the Mata Atlântica biodiversity hotspot. **Diversity and Distributions**, West Sussex, v. 25, p. 1846–1856, 2019.
- FAEGRI, K.; VAN DER PULL, L. **The principles of pollination ecology**. London: Pergamon Press, 3. ed., 1979. 244 p.
- FAGUNDES, N. F.; MARIATH, J. E. A. Ovule ontogeny in *Billbergia nutans* in the evolutionary context of Bromeliaceae (Poales). **Plant Systematics and Evolution**, Viena, v. 300, n. 6, p. 1323-1336, 2014.
- FARIA, A. P. G.; WENDT, T.; BROWN, G. K. Cladistic relationships of Aechmea (Bromeliaceae, Bromelioideae) and allied genera. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St Louis, p. 303-319, 2004.
- FIGUEIREDO, R. A. Reproductive aspects of sympatric bromeliads in Southeastern Brazil. **Journal of the Bromeliad Society**, Florida, v. 55, n. 5, p. 219-228, 2005.
- FITTER, A. H.; FITTER, R. S. R. Rapid changes in flowering time in British plants. **Science**, New York, n. 296, p. 1689-1691, 2002.
- FORZZA, R. C.; COSTA, A. F.; LEME, E. M. C.; VERSIEUX, L. M.; WANDERLEY, M. G. L.; LOUZADA, R. B.; MONTEIRO, R. F.; JUDICE, D. M.; FERNANDEZ, E. P.; GORGES, R. A. X.; PENEDO, T. S. A.; MONTEIRO, N. P.; MORAES, M. A. Bromeliaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro Vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013, p. 315-396.
- FORZZA, R. C.; COSTA, A. F.; MACIEL, J. R.; KESSOUS, I. M.; MONTEIRO, R. F.; FARIA, A. P.G.; TARDIVO, R. C.; BÜNEKER, H. M.; SARAIVA, D. P.; MOREIRA, B. A.; JACQUES, S. S. A.; ALMEIDA, M. M.; SANTOS-SILVA, F.; LOUZADA, R. B.; MOURA, R. L.; COUTO, D. R.; NEVES, B.; OLIVEIRA, F. M. C.; ARAÚJO, C. C.; GONÇALVES-OLIVEIRA, R. C.; VERSIEUX, L. M.; ROMANINI, R. P.; MACHADO, T. M.; SILVA, R. S. A.; PAIXÃO SOUZA, B.; GOMES-DA-SILVA, J.; URIBBE, F. P.; GUARÇONI, E. A. E.; SOUSA, L. O. F.; PONTES, R. A. S.; NOGUEIRA, M. G. C.; SOUSA, G. M.; KOCH, A. K.; PICANÇO, W. L.; CARDOSO, P. H.; MARTINS, S. E.; BARBOSA-SILVA, R. G.; WANDERLEY, M. G. L. **Bromeliaceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB66>. Acesso em: 12 dez. 2023

FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. C. B. Germinação in vitro e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, p. 18-20, 2006.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica**: Relatório técnico 2020/2021. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo, 2022.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica**: Relatório técnico 2021/2022. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo, 2023.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Relatório anual 2019**. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo, 2019.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Relatório anual 2020**. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo, 2020.

GARDNER, C. S. Preliminary classification of *Tillandsia* based on floral characters. **Selbyana**, Sarasota, n. 9, p.130-146, 1986.

GENTRY, A.H. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. **Biotropica**, Hoboken, v. 6, p. 64-68, 1974.

GIVNISH, T. J.; BARFUSS, M. H. J.; VAN, E. E. B.; RIINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; GONSISKA, P. A.; JABAILY, R. S.; CRAYN, D. M.; SMITH, J. A. C.; WINTER, K.; BROWN, G. K.; EVANS, T. M.; HOLST, B. K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P. E.; SYSTMA, K. J. Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 71, p. 55– 78, 2014.

GIVNISH, T. K.; MILLAM, K. C.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhf sequence data. **Aliso**, Claremont, v. 23, p. 3-26, 2007.

GIVNISH, T.J.; BARFUSS, M.H.J.; VAN, E.E. B.; RIINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; SYTSMA, K.J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, New York, v.98, n.5, p.872-895, 2011.

GOMES, P. R.; RASEIRA, M. C. B; BAUDET, L. L.; PESKE, S. T. Armazenamento do grão de pólen de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Uberlândia, v. 25, n. 1, p. 14-17, 2003.

GONÇALVES-OLIVEIRA, R.C.; MARTINS, S.E.; WANDERLEY, M.G.L. **Hohenbergia in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB6096>. Acesso em: 12 dez. 2023

GOUDA, E.J.; BUTCHER, D.; DIJKGRAAF, L. **Encyclopaedia of Bromeliads, Version 5**. 2023. Disponível em: <http://bromeliad.nl/encyclopedia/> Utrecht University Botanic Gardens. Acesso em: 12 dez. 2023.

GUERRA, A.; REIS, L. K.; BORGES, F. L. G.; OJEDA, P. T. A.; PINEDA, D. A. M.; MIRANDA, C. O.; MAIDANA, D. P. F. de L.; SANTOS, T. M. R. dos.; SHIBUYA, P. S.; MARQUES, M. C. M.; LAURANCE, S. G. W.; GARCIA, L. C. Ecological restoration in Brazilian biomes: Identifying advances and gaps. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 458, p. 1-7, 2020.

- HALBRITTER, H. Morphologie und systematische bedeutung des pollens der Bromeliaceae. **Grana**, London, v. 31, p. 197-2012, 1992.
- HESSE, M.; HALBRITTER, H.; ZETTER, R.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROSCHE-RADIVO, A.; ULRICH, S. **Pollen Terminology**: an illustrated handbook. New York: Springer Wien, 2009. 266 p.
- HOWE, H. F.; WESTLEY, L. C. Ecology of pollination and seed dispersal. In: CRAWLEY, M. J (Ed.). **Plant Ecology**. Oxford: Blackwell science, 1997.
- IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2020 [online], 2020. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso: 06 jan. 2024.
- JAYAPRAKASH, P.; SARLA, N. Development of an improved medium for germination of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. pollen in vitro. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 357 p. 851-855, 2001.
- KAMKE, R.; SCHMID, S.; ZILLIKENS, A.; LOPES, B.C.; STEINER, J. The importance of bees as pollinators in the short corolla bromeliad *Aechmea caudata* in southern Brazil. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, Amsterdam, v. 206, n. 8, p. 749–756, 2011.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, 1993. 583 p.
- KRÖMER, T.; GARCÍA-FRANCO, J.G.; TOLEDO-ACEVES, T. Epífitas vasculares como bioindicadores de la calidad forestal: impacto antrópico sobre su diversidad y composición. In: GONZÁLEZ-ZUARTH, C.A., VALLARINO, A., PÉREZ-JIMENEZ, J.C., LOW-PFENG, A.M. **Bioindicadores: guardianes de nuestro futuro ambiental**, pp. 605-623, 2014.
- KUHN, S. A.; NOGUEIRA, F. M.; FAGUNDES, N. F.; MARIATH, J. E. Morphoanatomy of the ovary and ovule in Bromeliaceae subfamily Tillandsioideae and its systematic relevance. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, n. 3, p. 343-361, 2016.
- LADINO, G.; OSPINA-BAUTISTA, F.; VARÓN, J. E.; JERABKOVA, L.; KRATINA, P. Ecosystem services provided by bromeliad plants: A systematic review. **Ecology and Evolution**, Lausanne, v. 9, p.7360-7372, 2019.
- LEME, E. M. C.; COUTO, D. R.; KOLLMANN, L. J.; FRAGA, C. N. Novelties in *Stigmatodon* (Bromeliaceae, Tillandsioideae), a genus endemic to Brazil: three new species, one new combination, and two new stigma types. **Phytotaxa**, Auckland, v. 576, n. 3, p. 233-249, 2022.
- LEME, E. M. C.; MARIGO, L. C. **Bromélias na natureza**. Marigo comunicação visual Ltda, Rio de Janeiro, 1993. 183 p.
- LEME, E.M.C. Re-establishing *Hohenbergia capitata*. **Journal of Bromeliad Society**, Sarasota, v. 60, p.151–157, 2010.
- LEME, E.M.C.; ZIZKA, G.; PAULE, J.; AGUIRRE-SANTORO, J.; HELLER, S.; RAMIREZ-MORILLO, I.M.; HALBRITTER, H.; MARIATH, J.E.A.; CARVALHO, J.D.T.; FORZZA, R.C. Re-evaluation of the Amazonian *Hylaeicum* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on neglected morphological traits and molecular evidence. **Phytotaxa**, Auckland, v. 49, p. 1-60, 2021.

LENZIN, M.; MATOS, J. Z.; ORTH, A. I. Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E.Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 487–500, 2006.

LIETH, H. Introduction to phenology and modeling of seasonality. In: LIETH, H. **Phenology and Seasonality Modeling**. New York: Springer-Verlag, pp. 3-19. 1974.

LOPES FILHO, D. R. MANTOVANO, T.; NEVES, G. P.; SILVA, N. J.; MIRANDA, V. B. dos S.; LANSAC-TÔHA, F. A. Bromeliad phytotelmata: the first scientometric study. **Limnetica**, Bilbao, v. 42, n. 1, p. 143-154, 2023.

LÓPEZ-LÓPEZ, J. I.; PARRA-TABLA, V.; MODRAGÓN, D. Variation in the flowering phenology of an epiphytic bromeliad along an elevational gradient. **Acta Biológica Colombiana**, Bogotá, v. 26, n. 1, p. 42-53, 2021.

MACHADO, I.C.S.; LOPES, A.V. A polinização em ecossistema de Pernambuco: uma revisão do estado atual do conhecimento. In: TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. **Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco**. Secretaria de Ciência e Tecnologia e Meio Ambiente, Fundação Joaquim Nabuco e Editora Massangana, Recife. pp. 583-596. 2002.

MARCELLÁN, O. N.; CAMADRO, E. L. The viability of asparagus pollen after storage at low temperatures. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 67, p. 101-104, 1996.

MARQUES, A. R.; DUARTE, A. A.; SOUZA, F. A.; LEMOS-FILHO, J. P. Does seasonal drought affect C3 and CAM tank-bromeliads from Campo Rupestre differently? **Flora**, Jena, v. 282, p. 151886, 2021.

MARQUES, A. R.; LEMOS FILHO, J. P. Fenologia reprodutiva de espécies de bromélias na Serra da Piedade, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 22, p. 417-424, 2008.

MARTINELLI, A. P. Morfologia e Conservação de Grãos de Pólen. In: WORKSHOP DE MANEJO DE POMARES DE POLINIZAÇÃO CONTROLADA, 16., 2012, São Paulo. **Anais** [...] São Paulo: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2012.

MARTINELLI, G. Biologia reprodutiva de Bromeliaceae na Reserva Ecológica de Macaé de Cima. In: LIMA, H. C.; GUEDES-BRUNI, R. R. **Serra de Macaé de Cima: diversidade florística e conservação em Mata Atlântica**. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro. pp. 213-250. 1997.

MARTINELLI, G. **Reproductive biology of Bromeliaceae in Atlantic rainforest of southeastern Brazil**. Phd Thesis. St. Andrews, University of St. Andrews, 1994.

MARTINELLI, G.; VALENTE, A. S. M.; MAURENZA, D.; KUTSCHENKO, D.C.; JUDICE, D.M.; SILVA, D.S.; FERNANDEZ, E.P.; MARTINS, E.M.; BARROS, F.S.M.; SFAIR, J.C.; SANTOS FILHO, L.A.F.; ABREU, M.B.; MORAES, M.A.; MONTEIRO, N.P.; PIETRO, P.V.; FERNANDES, R.A.; HERING, R.L.O.; MESSINA, T.; PENEDO, T.S.A. Avaliação de risco de extinção das espécies da flora brasileira. In: JAKOBSSON, A. **Livro Vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pp. 60-103. 2013.

MATALLANA, G.; GODINHO, M.A.S.; GUILERME, F.A.G.; BELISARIO, M.; COSER, T.S.; WENDT, T. Breeding systems of Bromeliaceae species: Evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. **Plant Systematics and Evolution**, Heidelberg, v. 289, n. 1–2, p. 57–65, 2010.

MATALLANA, G.; OLIVEIRA, P. E.; SILVA, P. R. R.; WENDT, T. Post-pollination barriers in an assemblage of Bromeliaceae in south - eastern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, p. 521-531, 2016.

MEDINA, E. Dark CO<sub>2</sub> fixation, habitat preference and evolution within the Bromeliaceae. **Evolution**, New York, v.28, p. 677-686, 1974.

MENEZES, I. S.; ROCHA, D. S. B.; FUNCH, R.; COUTO-SANTOS, A. P. L.; FUNCH, L. S. Identification of priority areas for *Eschweilera tetrapetala* (Lecythidaceae) conservation in response to climate change. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 72, p. 1-15, 2020.

MENZEL, A.; SPARKS, T. H.; ESTRELLA, N.; KOCH, E.; AASA, A.; AHAS, R.; ALMKUBLER, K.; BISSOLLI, P.; BRASLAVSKA, O.; BRIEDE, A.; CHMIELEWSKI, F.M.; CREPINSEK, Z.; CURNEL, Y.; DAHL, A.; DEFILA, C.; DONNELLY, A.; FILELLA, Y.; JATCZA, K.; MAGE, F.; MESTRE, A.; NORDLI, O.; PENUELAS, J.; PIRINEN, P.; REMISOVA, V.; SCHEIFINGER, H.; STRIZ, M.; SUSNIK, A.; VAN VLIET, A.J.H.; WIELGOLASKI, F.E.; ZACH, S.; ZUST, A. European phenological response to climate change matches the warming pattern. **Global Change Biology**, Oxford, v. 12, p. 1969-1976, 2006.

MEZ, C. Bromeliaceae. *In*: CANDOLLE, C. **Monographiae Phanerogamarum**, Paris. Sumptibus Masson, v. 9, n. 61, p. 1-144, 1896.

MOTA, S. S.; FARO, I. A. M.; CAVALCANTE, B. P. C.; SOUZA, F. V. D.; AONA, L. Y. S.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, E. H. Reproductive systems and hybridization of *Lymania* species (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil threatened with extinction. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 322, p. 1-11, 2023.

MOTA, S. S.; FARO, I. A. M.; SOARES, T. L.; ALMEIDA, P. S.; SOUZA, F. V. D.; AONA, L. Y. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROSSI, M. L.; SOUZA, E. H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 338, p. 1-10, 2024.

NARA, A. K.; WEBER, A. C. Biologia floral e polinização de *Aechmea beeriana* (Bromeliaceae) em vegetação de baixio na Amazônia central. **Acta amazônica**, Manaus, v. 32, n. 4, p. 571-588, 2002.

NATERCIA, F. Efeito-estufa adianta a primavera. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 58, n. 1. p. 14-15, 2006.

NEGRELLE, R. R. B.; MURARO, D. Aspectos fenológicos e reprodutivos de *Vriesea incurvata* Gaudich (Bromeliaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciece**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 95-102, 2006.

NERI, J.; PALMA-SILVA, C.; LELES, B.; SANTOS, M.F.; WENDT, T. Variation in reproductive systems facilitates species boundaries of sympatric *Vriesea* (Bromeliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 182, p. 272–279, 2017.

NEWSTROM, L.E.; FRANKIE, G.W.; BAKER, H.G. A new classification of plant phenology based on flowering patterns in lowlands tropical rain forest trees at la Selva, Costa Rica. **Biotropica**, Hoboken, v. 26, p. 141-159, 1994.

NOGUEIRA, F. M.; NATIVIDADE, F. F.; KUHN, S. A.; FREGONEZI, J. N.; MARIATH, J. N. Ovary and ovule anatomy in the nidularioid complex and its taxonomic utility

- (Bromelioideae: Bromeliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 177, n. 1, p. 66-77, 2015.
- NUNES-FREITAS, A. F.; ROCHA, C. F. D. Reproductive phenology and flower visitor's guild of *Canistropsis microps* (Bromeliaceae) in an Atlantic Rainforest of south-eastern Brazil. **Journal of Natural History**, Abingdon, v. 45, p. 1021-1034, 2011.
- OLIVEIRA, F. M. C.; RODRIGUES, A. C.; LUSA, M. G.; ALBUQUERQUE-MELO, G. F.; Androecium and gynoecium anatomy of Bromeliaceae species. **Flora**, Jena, v. 263, p. 151538, 2020.
- OLIVEIRA, F. M. C.; SOUZA, A. M. D.; CORRÊA, B. B. R.; MAEDA, T. M.; MELO-DE-PINNA, G. F. Anatomia floral de *Aechmea distichantha* Lem. e *Canistropsis billbergioides* (Schult. & Schult. f) Leme (Bromeliaceae). **Hoehnea**, São Paulo, v. 43, p. 183-193, 2016.
- OLIVEIRA, M. S. P.; MAUÉS, M. M.; KALUME, M. A. A. Viabilidade de pólen in vivo e in vitro em genótipos de açaizeiro. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 15, p. 27-33, 2001.
- OLIVEIRA, P. E.; MARUYAMA, P. K. Sistemas reprodutivos. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRO, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização**. Editora Projeto Cultural. Rio de Janeiro. 2014.
- PACINI, E.; HESSE, M. Cytophysiology of pollen presentation and dispersal. **Flora**, Jena, v. 199, p. 273-285, 2004.
- PAGGI, G. M.; PALMA-SILVA, C.; SILVEIRA, L. C.; KALTCHUK-SANTOS, E.; BODANESE-ZANETTINI, M. H.; BERED, F. Fertilidade de *Vriesea gigantea* Gaud. (Bromeliaceae) no sul do Brasil. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 94, n. 4, p. 683-689, 2007.
- PARTON, E.; VERVAEKE, R. DELEN, B. R. VANDENBUSSCHE, R. DE PROFT, M. Viability and storage of bromeliad pollen. **Euphytica**, Wageningen, v. 125, p. 155-161, 2002.
- PEREIRA, F. R. L.; QUIRINO, Z. G. M. Fenologia e biologia floral de *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae) na caatinga paraibana. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 4, p. 835-844, 2008.
- PINTO, A. M.; MORELLATO, L.P.C.; BARBOSA, A.P. Fenologia reprodutiva de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd (Fabaceae) em duas áreas de floresta na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p. 643 – 650, 2008.
- PINTO, A. M.; RIBEIRO, R. J.; ALENCAR, J. C.; BARBOSA, A. P. Fenologia de *Simarouba amara* Aubl. na reserva florestal Adolpho Ducke, Manaus, AM. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, n. 3, p. 347 – 352, 2005.
- PIO, L. A. S.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, F. S.; RUFINI, J. C. M. Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 147-153, 2007.
- RAYNALD, J.; RAYNALD, A. Une technique de preparation des grains de pollen fragiles. **Adansonia**, Paris, v. 11, p. 77-79, 1971.

- RESTREPO-CHICA, M.; BONILLA-GÓMEZ, M. A. Dinámica de la fenología y visitantes florales de dos bromelias terrestres de un páramo de Colombia. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, Ciudad de México, v. 88, p. 636–645, 2017.
- ROCHA, C. F. D.; COGLIATTI-CARVALHO, L.; ALMEIDA, D. R.; FREITAS, A. F. N. Bromeliads: Biodiversity amplifiers. **Journal of Bromeliad Society**, Sarasota, v. 50, n. 2, p. 81-83, 2000.
- ROCHA, C. F. D.; COGLIATTI-CARVALHO, L.; NUNES-FREITAS, A. F.; ROCHA-PESSÔA, T. C.; DIAS, A. S.; ARIANI, C. V.; MORGADO, L. N. Conservando uma larga porção da diversidade biológica através da conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, Viçosa, v.2, n.1, p. 52-72, 2004.
- ROCHA-PESSÔA, T. C.; ROCHA, C. F. D. Reproductive cycle of *Pitcairnia flammea* Lindl. (Bromeliaceae/Pitcairnioideae) in an insular Atlantic rainforest area in southeastern Brazil. **Flora**, Jena, v. 203, p. 229 – 233, 2008.
- ROMERO, G. Q.; MARINO, N. A. C.; MACDONALD, A. A. M.; CÉRÉGNINO, R.; TRZCINSK, M. K.; MERCADO, D. A.; LEROY, C.; CORBARA, B.; FARJALLA, V. F.; BARBERIS, I. M.; DÉZERALD, O.; HAMMILL, E.; ATWOOD, T. B.; PICCOLI, G. C. O.; BAUTISTA, F. O.; CARRIS, J-F.; LEAL, J. S.; MONTERO, G.; ANTIQUEIRA, P. A. P.; FREIRE, R.; REALPE, E.; AMUNDRUD, S. L.; OMENA, P. M.; CAMPOS, A. B. A.; KRATINA, P.; O’GORMAN, F. J.; SRIVASTAVA, D. S. Extreme rainfall events alter the trophic structure in bromeliad tanks across the Neotropics. **Nature communications**, London, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2020.
- RUBIM, P.; NASCIMENTO, H.E.M.; MORELLATO, L.P. Variações interanuais na fenologia de uma comunidade arbórea de floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 24, n. 3, p.756-764, 2010.
- SALGADO-LABOURIAU, M.L. **Contribuição à palinologia dos cerrados**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 219pp, 1971.
- SANTANA, C. S.; MACHADO, C. G. Fenologia de floração e polinização de espécies ornitófilas de bromeliáceas em uma área de campo rupestre da Chapada Diamantina, BA, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 469-477, 2010.
- SANTOS, T.; TIAGO, P.; SCHMITT, K. F.; MARTINS, K.; ROSSI, A. A. Viabilidade pólinica em *Bertholletia excelsa* Bonpl.(Lecythidaceae) baseada em diferentes testes colorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 22, 2015.
- SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; DALL AGNOL, M. Auto-incompatibilidade em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p.1083–1090, 2002.
- SCHULTES, J. A.; SCHULTES, J. H. *Hohenbergia*. **Caroli a Linné, equitis, Systema Vegetabilium. Classes, Ordines, Genera, Species; cum characteribus, differentiis et synonymiis**. v.7, n.2, pp. 1251-1254. Stuttgartiae, 1830.
- SCHWARTZ, M. D. Advancing to full bloom: planning phenological research for the 21st century. **International Journal of Biometeorology**, Berlin, v. 42, p. 113-118, 1999.
- SHIVANNA, K. R.; RANGASWAMY, N. S. **Pollen biology**. A laboratory manual. Berlin/New York: Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 1992. 119 p.
- SILVA, J. J.; DUARTE, E.; KIILL, L. H. P.; GOMES, R. A.; DANTAS, B. F.; PELACANI, C. R.; FUNCH, L. S. Phenological dynamics of four populations of

*Handroanthus spongiosus* in seasonally dry tropical forest in Brazil. **Flora**, Jena, v. 306, p. 152371-13, 2023.

SILVA, V. J. D.; RIBEIRO, E. M.; LUIZI-PONZO, A. P.; FARIA, A. P. G Ultrastructure and pollen morphology of Bromeliaceae species from the Atlantic Forest of southeastern Brazil. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, Rio de Janeiro, v. 88, p. 439-449, 2016.

SIQUEIRA, S. F. H.; COSTA, A. F.; TONI, K. L. G. Beyond SEM: Stigmatic margins in Bromeliaceae. **Flora**, Jena, v. 298, p. 152195, 2023.

SIQUEIRA-FILHO, J. A.; LEME, E.M.C. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste-Biodiversidade, Conservação e suas Bromélias**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio, 2006. 415 p.

SIQUEIRA-FILHO, J. A.; MACHADO, I. C. Síndromes de polinização de uma comunidade de Bromeliaceae e biologia floral de *Vriesea psittacina* (Hoker) Lindley (Bromeliaceae) em Brejos dos Cavalos, Caruaru, Pernambuco. In: Porto, K. P.; Cabral, J. J. P.; Tabarelli, M. **Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba**. História natural, ecologia e conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. pp. 227-284. 2004.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, New York. v. 14, n. 1, p. 1-658, 1974.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**. New York. v.14, n.3, p. 2064, 1979.

SMITH, L.B.; TILL, W. Bromeliaceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.) **The families and genera of vascular plants IV**. Springer, New York, 1998, 25 pp.

SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, A. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 8, p. 111-118, 2008.

SOUZA, E. H.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; MARTINELLI, A. P. Stigma structure and receptivity in Bromeliaceae. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 203, p. 118-125, 2016.

SOUZA, E. H.; SILVA, T. A.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, F. V. D.; LEME, E. M. C. *Hohenbergia amargosensis* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a new ornamental species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 567, n. 1, p. 086–092, 2022.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; PACKER, R. M.; CRUZ-BARROS, M. A.; MARTINELLI, A. P. Pollen morphology and viability in Bromeliaceae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 89, p. 1-16, 2017b.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M.L.; LEDO, C. A. S.; MARTINELLI, A. P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic Forest. **Euphytica**, Wageningen, v. 204, p. 13–28, 2015.

SOUZA, E. H.; VERSIEUX, L. M.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; COSTA, M. A. P. D. C.; MARTINELLI, A. P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. **Scientia Horticulturae**, Wageningen, v. 223, p. 53–61, 2017a.



- SRIVASTAVA, D. S. Extreme rainfall events alter the trophic structure in bromeliad tanks across the Neotropics. **Nature communications**, London, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2020.
- STANLEY, R.G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, biochemistry, management**. New York: Springer Verlag Berlin Heidelberg, 1974. 307 p.
- STEBBINS, G. L. Adaptive radiation and trends of evolution in higher plants. **Evolutionary Biology**. New York, v. 1, p. 101-142, 1967.
- STONE, J. L.; THOMSON, J. D.; DENT-ACOSTA, S. J. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments: a review. **American Journal of Botany**, New York, v. 82, p. 1186-1197, 1995.
- TAGLIATI, M. C.; OLIVEIRA, H. C.; FARIA, A. P. G. Fenologia reprodutiva, recursos florais e polinização de espécies de Bromeliaceae em um remanescente urbano de Floresta Atlântica do sudeste brasileiro. **Diversidade e Gestão**, Três Rios, v. 2, n. 2, p. 139-150, 2018.
- TALORA, D. C.; MORELLATO, L. P. C. Fenologia de espécies arbóreas em floresta de planície litorânea do sudeste do Brasil. **Revista Brasileira Botânica**, São Paulo, v. 1, n. 23, p. 13-26, 2000.
- TSCHAPKA, M.; HELVERSEN, O. V. Phenology, nectar production and visitation behaviour of bats on the flowers of the bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a Costa Rican lowland rain forest. **Journal of Tropical Ecology**, Czech Republic, v.23, n. 4, p. 385-395, 2007.
- TSUDA, É. T.; CASTELLANI, T. T. *Vriesea friburgensis*: A natural trap or a nurse plant in coastal sand dunes? **Austral Ecology**, New South Wales, v. 41, n. 3, p. 273-281, 2016.
- VAN TUYL, J. M.; DE JEU, M. J. **Methods for overcoming interspecific crossing barriers. Pollen biotechnology for crop production and improvement**. New York: Cambridge University Press. pp. 273-292, 1997.
- VASCONCELLOS, V. C.; OLIVEIRA, J. M. S. Descrição morfológica e anatômica da estrutura floral em *Dyckia ibicuiensis* Strehl (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, Itapetinga, v. 6, n. 6, p. 58-69, 2019.
- VELÁSQUEZ-NORIEGA, P.; KRÖMER, T.; PACHECO, L. F. Floral ecology of *Puya ctenorhyncha* (Bromeliaceae) an endemic plant of Bolivia. **Botanical Sciences**, Cidade de México, v. 102, n. 1, p. 68-82, 2023.
- VERVAEKE, I.; PARTON, E.; DEROOSE, R.; DE PROFT, M. P. Controlling prefertilization barriers by in vitro pollination and fertilization of Bromeliaceae. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 572, p. 21-28, 2002.
- VERVAEKE, I.; PARTON, E.; DEROOSE, R.; DE PROFT, M. P. Prefertilization barriers between different Bromeliaceae. **Euphytica**, Wageningen, v. 118, p. 91-97, 2001.
- WANDERLEY, M. G. L.; MARTINS, S. E., COORDS. Bromeliaceae. *In*: WANDERLEY, M. G. L., SHEPHERD, G. J.; MELHEM, T. S., GIULIETTI, A. M., (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 5, p. 39-161, 2007.

WANDERLEY, M. G. L.; MELHEM, T. S. Flora Polínica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga - Família 178- Bromeliaceae. **Hoehnea**, São Paulo, v.18, p. 5-42. 1991.

WINTER, K.; SMITH, J. A. C. **Crassulacean Acid Metabolism: Biochemistry, Ecophysiology, and Evolution**. Springer, Berlin. 1996. 449 p.

XAVIER, C. N.; GRANATO-SOUZA, D.; BARBOSA, A. C. M. C.; SILVA, J. R. M. da. Tropical dendrochronology applied to invasive tree species in the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Forestry Research**, Heidelberg, v. 32, n. 1, p. 91–101, 2019.

ZANELLA, C. M.; JANKE, A.; PALMA-SILVA, C.; KALTCHUK-SANTOS, E.; PINHEIRO, F. G.; PAGGI, G. M.; SOARES, L. E. S.; GOETZE, M.; BUTTOW, M. V.; BERED, F. Genetics, evolution and conservation of Bromeliaceae. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 35, p. 1020–1026, 2012.

ZIZKA, A.; AZEVEDO, J.; LEME, E.; NEVES, B.; COSTA, A. F.; CÁCERES, D.; ZIZKA, G. Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). **Diversity and Distributions**, West Sussex, v. 26, p.183–195, 2019.

## CAPÍTULO 1

### **MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromelioideae, Bromeliaceae) OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup> Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Periódico "Plant Biology".

## MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromelioideae, Bromeliaceae) OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA

**RESUMO:** *Hohenbergia* possui 55 espécies, das quais 53 são endêmicas do Brasil. Dessas, 21 são encontradas apenas na Mata Atlântica do Estado da Bahia, tornando esse local o de maior diversidade para o gênero. Estudos sobre a biologia floral e reprodutiva são fundamentais para subsidiar trabalhos de taxonomia, preservação, conservação, ecologia e melhoramento genético. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a morfologia polínica e do estigma, bem como avaliar a viabilidade polínica e a receptividade do estigma de sete espécies de *Hohenbergia* ocorrentes na Mata Atlântica. Para a caracterização morfológica, os grãos de pólen foram analisados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e submetidos acetólise láctica (ACLAC 40). Foi realizada a quantificação de grãos de pólen e óvulos. Adicionalmente, foram realizados testes de viabilidade polínica a partir da germinação in vitro dos grãos de pólen em meios de cultura BM e SM, testes histoquímicos com solução de Alexander e diacetato de fluoresceína, bem como a avaliação da receptividade do estigma com peróxido de hidrogênio e  $\alpha$ -naftil-acetate + fast blue B salt nos diferentes estádios de desenvolvimento floral. Todas as espécies apresentam grãos de pólen em mônades, heteropolares ou isopolares, âmbito circular ou elíptico, porados, com poros variando no tamanho, formato e quantidade (bi ou triporados), com membrana da abertura ornamentada, além de apresentarem variações na exina e em sua ornamentação. Os estigmas das espécies de *Hohenbergia* são do tipo conduplicado-espiral, possuem pequenas diferenças na cor e no tamanho, incluindo o tamanho do estilete. Os grãos de pólen apresentaram maior viabilidade na antese, independente da metodologia empregada. As duas metodologias para avaliar a receptividade do estigma apresentaram o mesmo resultado, com maior atividade enzimática na antese para todas as espécies. Este estudo fornece dados qualitativos e quantitativos dos grãos de pólen e estigma de espécies de *Hohenbergia* que são importantes para a taxonomia do grupo, bem como para subsidiar estudos reprodutivos e de conservação das espécies.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bromélia; Biologia floral e reprodutiva; Conservação; Germinação in vitro; Morfologia polínica e do estigma; Teste histoquímico.

**MORPHOLOGY, POLLEN VIABILITY AND STIGMA RECEPTIVITY OF  
Hohenbergia Schult. & Schult.f. (Bromelioideae, Bromeliaceae) OCCURRING IN  
THE ATLANTIC FOREST**

**ABSTRACT:** *Hohenbergia* comprises 55 species, of which 53 are endemic to Brazil. Among these, 21 are exclusively found in the Atlantic Forest in the state of Bahia, making this location the most diverse for the genus. Studies on floral and reproductive biology are essential to support taxonomy, preservation, conservation, ecology, and genetic improvement efforts. This study aimed to characterize the pollen and stigma morphology, as well as evaluate the pollen viability and stigma receptivity of seven *Hohenbergia* species occurring in the Atlantic Forest. For morphological characterization, pollen grains underwent scanning electron microscopy (SEM) and lactic acetolysis (ACLAC 70). Additionally, pollen and ovule quantification were carried out. Viability tests were performed through in vitro germination of pollen grains in BM and SM culture media, histochemical tests with Alexander solution and fluorescein diacetate, as well as the evaluation of stigma receptivity with hydrogen peroxide and  $\alpha$ -naphthyl-acetate + fast blue B salt at different floral developmental stages. All species exhibited monad pollen grains that are heteropolar or isopolar, circular or elliptical in shape, porous with an ornamented aperture membrane, in addition to presenting variations in the exine and its ornamentation. The stigmas of *Hohenbergia* species are conduplicate-spiral type, showing small differences in color and size, including the size of the style. Pollen grains demonstrated higher viability during anthesis, regardless of the methodology used. Both methodologies for evaluating stigma receptivity yielded the same result, with higher enzymatic activity during anthesis for all species. This study provides qualitative and quantitative data on pollen and stigma of *Hohenbergia* species, which are crucial for the taxonomy of the group and support reproductive and species conservation studies.

**KEYWORD:** Bromeliad; Floral and Reproductive Biology; Conservation; In vitro Germination; Pollen and Stigma Morphology; Histochemical Test.

## INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica, mesmo com apenas 12,4% da sua área de mata original, continua passando por intensas ações de desmatamento e fragmentação em toda sua extensão (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2022; 2023). Ainda assim, esse bioma é classificado como o domínio fitogeográfico do Brasil que possui maior número de registros de espécies da família Bromeliaceae (FORZZA et al., 2023).

Dos 82 gêneros e 3.764 espécies da família Bromeliaceae, *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromelioideae) é o 17º maior gênero, contendo 55 espécies (GOUDA; BUTCHER; DIJKGRAAF, 2023). No Brasil, são encontradas 54 espécies desse gênero, sendo 53 endêmicas do país. Destas, 42 possuem registro de coleta no estado da Bahia, sendo que 21 são encontradas apenas na Mata Atlântica em território baiano, tornando esse o local de maior diversidade para o gênero (CRIA, 2023; GONÇALVES-OLIVEIRA; MARTINS; WANDERLEY, 2023).

Dentre as múltiplas áreas de pesquisa a serem exploradas quando se busca conhecer uma espécie ou grupo vegetal, a biologia floral e reprodutiva é fundamental para subsidiar ferramentas de trabalhos relacionadas a taxonomia, temática de preservação e conservação; definir técnicas adequadas para cruzamentos controlados e obtenção de sementes; além de compreender as relações ecológicas e mecanismos entre as espécies (LEVIN, 1971; COYNE; ORR, 2004; MARTINELLI et al., 2008; MARTINELLI; MORAES, 2013; BAACK et al., 2015; SOUZA et al., 2016; BASTOS et al., 2017; MAJEED et al., 2020).

Diversos estudos da receptividade e morfologia do estigma, bem como da morfologia, estrutura e viabilidade dos grãos de pólen em Bromeliaceae foram realizados. Como exemplo, podem ser citados, Ehler e Schill (1973), Erdtman e Praglowski (1974), Wanderley e Melhem (1991), Roubik e Moreno (1991), Halbritter (1992), Halbritter e Till (1998), Tardivo e Rodrigues (1998), Parton et al. (2001), Vervaeke et al. (2003), Souza et al. (2004), Moreira, Cruz-Barros e Wanderley (2005), Soares et al. (2011), Silva et al. (2016), Souza et al. (2016), Bastos et al. (2017), Souza et al. (2017), Santos et al. (2018), Schoeder et al. (2019), Santos et al. (2020), Souza et al. (2020a), Souza et al. (2020b), Leme et al. (2021), Santos et al. (2021), Leme et al. (2022) e Mota et al. (2024).

Ainda que muito conhecimento tenha sido produzido, devido ao número de espécies que compõem a família, os dados existentes ainda se referem a uma pequena parcela do total de espécies em Bromeliaceae. Além disso, os trabalhos existentes evidenciam uma grande diversidade polínica na família. Os grãos de pólen em Bromeliaceae possuem variações em seu tamanho, forma, ornamentação, tipos, número e extensão das aberturas e deposição ou não de exina na membrana da abertura, com diferentes arranjos (WANDERLEY E MELHEM, 1991; HALBRITTER, 1992; HALBRITTER E TILL, 1998; MOREIRA, CRUZ-BARROS E WANDERLEY, 2005; SILVA et al., 2016; SOUZA et al., 2016; SOUZA et al., 2017; SANTOS et al., 2018; SANTOS et al., 2020; SOUZA et al., 2020a; SOUZA et al., 2020b; LEME et al., 2021; SANTOS et al., 2021; LEME et al., 2022). A caracterização polínica possui importância fundamental para análises palinológicas (ERDTMAN, 1952; ERDTMAN, 1960; SALGADO-LABOURIAU, 1971). Além disso, as características polínicas estão intimamente associadas às estratégias reprodutivas da planta (FERGUSON; SKVARLA, 1982; FIRON et al., 2012; HESSE et al., 2009), como na polinização (HESSE, 2000) e na relação com a germinação do tubo polínico no estigma, já que o fato de um número maior de aberturas no grão de pólen influencia positivamente na fecundação (FURNESS E RUDALL, 1999). Atualmente, diversos trabalhos têm

incluído características polínicas em abordagens filogenéticas, contribuindo para o refinamento taxonômico de grupos específicos em Bromeliaceae (HELLER et al., 2015; LEME et al., 2017a; LEME et al., 2017b; LEME et al., 2021; LEME et al., 2022). De modo semelhante, a morfologia do estigma é observada em estudos taxonômicos por se manter também conservada dentro de cada espécie e gênero (BARFUSS et al., 2016; SOUZA et al., 2016).

Para ações de conservação e reprodução sexuada das espécies, em complemento aos estudos morfológicos, é necessário conhecer a viabilidade polínica e o período que o estigma se encontra receptivo (STONE et al., 1995; SOUZA et al., 2017; 2021). Dentre as metodologias utilizadas para medir a viabilidade dos grãos de pólen, pode-se destacar a germinação *in vitro* (DUTRA et al., 2000; PARTON et al., 2002; GOMES et al., 2003; PIO et al., 2007; SOUZA et al., 2017) e os testes histoquímicos (SHIVANNA; RANGASWAMY, 1992; KEARNS; INOUE, 1993; SOUZA et al., 2017), sendo a germinação *in vitro* o mais utilizado, já que simula a interação do grão de pólen com o estigma e permite observar o crescimento do tubo polínico (SOARES et al., 2013; SOUZA et al., 2017; MOTA et al., 2024).

O resultado da germinação *in vitro* pode ser influenciado a partir do comportamento da espécie, nutrição da planta, horário e modo de coleta dos grãos de pólen, fotoperíodo, temperatura, período de incubação e, principalmente, a composição do meio de cultura, que quando necessário, deve ser ajustado para cada espécie (BREWBAKER; KWACH, 1963; DAFNI, 1992; TAYLOR; HEPLER, 1997; SOARES et al., 2008; TUSHABE; ROSBAKH, 2021; YAMAGUCHI; YAMAZAKI; AKUTSU, 2023).

A receptividade do estigma interfere diretamente na fecundação da planta e no sucesso da polinização (GALEN; PLOWRIGHT, 1987). Para que aconteça a fertilização e posterior formação das sementes, os grãos de pólen devem se fixar à superfície do estigma, hidratados para a germinação, seguido do crescimento do tubo polínico até a penetração na micrópila. Todo esse processo só é possível graças a produção de exsudatos a partir da liberação de enzimas na superfície do estigma para aderência dos grãos de pólen. Essas enzimas, principalmente as esterases e peroxidases, fazem parte das respostas de incompatibilidade ou incongruência, assim como agem na penetração do tubo polínico no pistilo (BHATTACHARYA; MANDAL, 2003; KULLOLI et al., 2010).

Para determinar o momento ideal de deposição dos grãos de pólen na superfície do estigma são utilizados alguns métodos que indicam sua receptividade (SOUZA et al., 2016). Dentre os métodos mais utilizados estão os testes com peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou com solução de *α-naftil-acetate* com *fast blue B salt*. O peróxido de hidrogênio indica a receptividade com o surgimento de bolhas de ar, possui baixo custo e requer uma atenção a qualquer dano do tecido para evitar um resultado falso positivo. Já a solução de *α-naftil-acetate* com *fast blue B salt*, quando em contato com a enzima esterase, cora a superfície do estigma receptivo de marrom escuro, indicando que o estigma está receptivo (DAFNI, 1992; KEARNS; INOUE, 1993; SOUZA et al., 2016).

Este estudo abordou aspectos que podem subsidiar estudos taxonômicos, de conservação e melhoramento genético no gênero *Hohenbergia*. Assim, seu objetivo foi caracterizar a morfologia dos grãos de pólen e estigma de sete espécies de *Hohenbergia* ocorrentes na Mata Atlântica da Bahia, pertencentes ao mesmo complexo de espécies, bem como avaliar a viabilidade polínica e a receptividade do estigma em diferentes metodologias e estádios de desenvolvimento floral.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal e área de estudo

Este estudo foi desenvolvido com sete espécies de *Hohenbergia* ocorrentes na Mata Atlântica do estado da Bahia, Brasil, coletadas em populações naturais (Figura 1, Tabela 1).



**Figura 1.** Mapa da Bahia com os respectivos pontos de estudo e coleta das espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) utilizadas nos experimentos de morfologia polínica e biologia floral e reprodutiva. Fonte: Adaptado de Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia (SEI 2014).



**Tabela 1.** Espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil, município de coleta no estado da Bahia e voucher do Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB).

<b>Espécie</b>	<b>Município de coleta</b>	<b>HURB (voucher)</b>
<i>Hohenbergia amargosensis</i> E.H.Souza & Leme	Ubaíra	25001
	Amargosa	26116
<i>Hohenbergia belemii</i> L.B.Sm. & Read.	Ilhéus	18857
	Una	18863
	Uruçuca	25320
<i>Hohenbergia capitata</i> Schult. & Schult.f.	Camacan	25319
	Arataca	26109
<i>Hohenbergia ituberaensis</i> B.P.Cavalcante, E.H.Souza & Versieux	Ituberá	30428
	Igrapiúna	30438
<i>Hohenbergia nidularioides</i> B.P.Cavalcante, E.H.Souza, A.P. Martinelli & Versieux	Una	18862
<i>Hohenbergia rosea</i> L.B.Sm. & Read.	Vitória da Conquista	25316
	Cruz das Almas	13598
	Brejões	17895
<i>Hohenbergia stellata</i> Schult. & Schult.f.	Santa Teresinha	22188
	Amargosa	25324
	Igrapiúna	31974

O voucher de cada espécie foi incorporado ao Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) (Tabela 1) e amostras vivas depositadas no Banco de Germoplasma de Bromélias (BGB Bromélia) do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPG-RGV) da Embrapa Mandioca e Fruticultura e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no município de Cruz das Almas, Bahia. As coletas foram realizadas conforme autorização do SISBIO n. 69870-1 e as atividades estão devidamente cadastradas no SISGEN, sob a autorização A9E9F8D.

O estudo foi realizado com flores coletadas na antese floral em populações naturais, e sempre que possível, em mais de uma população. A viabilidade polínica e a receptividade do estigma foram realizadas em três flores de diferentes plantas nos três estádios de desenvolvimento floral (pré-antese às 18h da tarde com as flores em botão, antese às 6h da manhã com a flor recém-aberta e pós-antese, 18h da tarde quando a flor estava fechada com as pétalas murchas).

### **Morfologia dos grãos de pólen**

Para caracterização morfológica dos grãos de pólen, anteras foram coletadas nos estádios de pré-antese, antese e pós-antese e fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) modificada (glutaraldeído 1%, formaldeído 4%, CaCl<sub>2</sub> 0,1 M, tampão cacodilato de sódio 0,2 M, em pH 7,2). Após 48 horas de fixação, o material foi desidratado em série etílica crescente (35-100%), por 20 minutos cada. As amostras foram secas utilizando o método de ponto crítico Bal-Tec CPD 030 (Balzers, Liechtenstein). Em seguida, os grãos de pólen foram montados em "stubs" e metalizados com ouro utilizando Bal-Tec SCD 050 (Balzers, Liechtenstein). As eletromicrografias foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) Hitachi TM3000 (Ibaraki, Japão) operando a 10 KV. Os grãos de pólen foram

caracterizados conforme nomenclatura descrita por Punt et al. (2007) e Halbritter et al. (2018).

### **Morfometria dos grãos de pólen e estigma**

Os dados morfométricos dos grãos de pólen foram obtidos a partir de grãos acetolisados [acetólise láctica fraca - ACLAC 40 (RAYNAL; RAYNAL, 1979)] e analisados em microscópio Olympus BX51 (Olympus, Tóquio, Japão) acoplado com câmera digital Olympus DP175 (Olympus, Tokyo, Japão). As medidas foram realizadas com o auxílio do programa ImageJ 1.53s (RASBAND, 1997-2018), a partir do diâmetro polar e equatorial (em vista equatorial) e o diâmetro equatorial maior e menor (em vista polar), além da espessura da exina em 25 unidades de grãos de pólen (LABOURIAU; VANZOLINI; MELHEM, 1965).

Para a morfometria, o estigma e estilete de três flores de três plantas diferentes, de cada espécie foram medidos com o auxílio do programa ImageJ 1.53s. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste Scott-Knott ( $p < 0,01$ ), no programa R Core Team (2023). A nomenclatura utilizada para o estigma está de acordo com Brown e Gilmartin (1984; 1989) e Barfuss et al. (2016).

### **Quantificação dos grãos de pólen**

A estimativa do número de grãos de pólen foi realizada por meio da contagem em câmara de Neubauer. Anteras de três flores de plantas diferentes, em pré-antese, foram removidas individualmente e acondicionadas em tubo de Eppendorf® de 2 mL, contendo 1 mL de ácido láctico. Em seguida, as anteras foram maceradas e a suspensão agitada em vórtex. Com auxílio de uma micropipeta, foi retirado todo o volume da mistura e colocado na canaleta da câmara de Neubauer, onde foi contado com auxílio de um microscópio Olympus BX51 (Olympus, Tóquio, Japão) acoplado a uma câmera digital Olympus DP175 (Olympus, Tóquio, Japão) (KEARNS; INOUE, 1993).

### **Viabilidade dos grãos de pólen**

Para estudos da viabilidade polínica foram analisadas a germinação in vitro e testes histoquímicos. Na germinação in vitro, três flores de três plantas diferentes, em diferentes estádios de desenvolvimento floral, já descritas anteriormente, foram coletadas, suas anteras retiradas e os grãos de pólen espalhados com auxílio de um pincel, a fim de serem distribuídos de forma mais uniforme possível nas placas de Petri, contendo 25 mL do meio de cultura BM com 0,01% de  $H_3BO_3$ ; 20% de sacarose; solidificado com 0,5% de ágar (PARTON et al., 2002) e meio de cultura SM com 0,01% de  $H_3BO_3$ ; 0,03% de  $Ca(NO_3)_2$ ; 0,02% de  $MgSO_4$ ; 0,01% de  $KNO_3$ ; 15% de sacarose; solidificado com 0,8% de ágar; pH ajustado para 6,5 (SOARES et al., 2008). As placas com os grãos de pólen foram mantidas em câmara climatizada com temperatura de  $27 \pm 1$  °C.

A contagem dos grãos de pólen germinados e a medida do comprimento do tubo polínico foram realizadas 24 horas após a inoculação em meio de cultura. Foram depositadas cinco gotas de azul de toluidina 0,01% para facilitar o contraste e imediatamente foram obtidas fotomicrografias com auxílio de estereomicroscópio Leica EZ4 W (Leica Microsystems, Alemanha).

Para a percentagem de germinação foram contabilizados todos os grãos de pólen da placa, enquanto para o comprimento do tubo polínico foram mensurados aleatoriamente cinco tubos em cada quadrante, totalizando 60 tubos polínicos de cada tratamento. Foram considerados germinados os grãos de pólen que possuíam tubo polínico com tamanho igual ou superior ao diâmetro do próprio pólen (SOARES et al., 2008). As medidas foram realizadas utilizando o programa ImageJ 1.53s.

O delineamento experimental para germinação de grãos de pólen foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 x 9 (meio de cultura x estágio de desenvolvimento floral x espécie) com 12 repetições.

Os dados de percentagem de germinação foram transformados para arc sen ( $\sqrt{x}/100$ ) antes da análise estatística. Para comparação, os dados foram submetidos à análise de variância e os valores comparados pelos testes: Tukey ( $p < 0,01$ ) para os estádios de desenvolvimento floral e F ( $p < 0,01$ ) para os dois meios de cultura, por meio do software R Core Team (2023).

Para os testes histoquímicos foram utilizadas duas metodologias: solução de Alexander (ALEXANDER, 1969) e solução de diacetato de fluoresceína - FDA (HESLOP-HARRISON; HESLOP-HARRISON, 1970). Anteras de três flores coletadas de diferentes plantas, procedências e estágio de desenvolvimento floral foram distribuídas sobre lâminas de vidro, adicionando uma gota do corante específico, cobrindo com lamínula e avaliando em seguida. A fim de se obter uma amostragem ao acaso dos grãos de pólen corados, foi utilizado o método de varredura da lâmina em microscópio de luz (para Alexander) e microscópio de fluorescência com filtro UV (para FDA) Olympus BX51 (Olympus, Tóquio, Japão) acoplado com câmera digital Olympus DP175 (Olympus, Tokyo, Japão). Foram contabilizados 100 grãos de pólen por lâmina com três repetições cada, perfazendo um total de 300 grãos de pólen para cada corante (SOARES et al., 2016).

Os dados de percentagem de viabilidade foram transformados para arc sen ( $\sqrt{x}/100$ ) antes da análise estatística. O delineamento experimental para os testes histoquímicos foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 x 9 (teste histoquímico x estágio de desenvolvimento floral x espécie) com três repetições. Para comparação, os dados foram submetidos à análise de variância e os valores comparados pelos testes: Tukey ( $p < 0,01$ ) para os estádios de abertura da flor, F ( $p < 0,01$ ) para os dois testes histoquímicos e Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) para as espécies, por meio do software R Core Team (2023).

### Receptividade do estigma

A verificação da receptividade do estigma foi realizada utilizando duas metodologias: peróxido de hidrogênio (3%) e solução de  $\alpha$ -naftil-acetato com *fast blue B salt* e acetona. Três flores em diferentes plantas, procedência e estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese) foram coletadas para cada solução, totalizando 9 repetições por metodologia.

Os estigmas e estiletos foram removidos da flor com cuidado para evitar lesões que interferissem no resultado e imediatamente imersos nas diferentes soluções. Para a solução com peróxido de hidrogênio (3%) os estigmas permaneceram por três minutos, onde se observou a formação de bolhas de ar em resposta a reação enzimática da peroxidase com o peróxido de hidrogênio (ZEISLER, 1933).

Para avaliação com  $\alpha$ -naftil-acetate com *fast blue B salt* + acetona, os estigmas foram imersos por cerca de cinco minutos na solução, em seguida, lavados com água destilada. Verificou-se a coloração marrom intenso ou preto em estigmas receptivos,

em decorrência da reação da enzima esterase com a solução, na superfície do estigma e/ou das papilas (PEARSE, 1972; DAFNI, 1992).

Para ambas as metodologias, o grau de receptividade foi estimado conforme adaptação de Dafni e Maués (1998): (-) sem reação; (+) resposta positiva fraca; (++) resposta positiva forte; (+++) resposta muito forte.

### **Número de óvulos**

A contagem do número de óvulos ocorreu com a retirada do ovário completo de três flores de diferentes plantas e procedência em pré-antese. Em seguida, realizou-se um corte longitudinal em cada lóculo do ovário, expondo os óvulos o máximo possível. Houve a contagem do número de óvulos presentes em cada lóculo com auxílio de estereomicroscópio Leica EZ4 W (Leica Microsystems, Alemanha).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Morfometria dos grãos de pólen**

Foi observada variabilidade morfológica dos grãos de pólen entre as sete espécies de *Hohenbergia*, principalmente, em relação à forma (oblato ou suboblato), em características específicas da abertura (bi ou triporado; variação na forma do poro e no padrão e quantidade de deposição de exina na membrana da abertura) e ornamentação da exina (eutectada psilada a semitectada perforada ou reticulada) (Tabela 2 e 3, Figura 2). Os grãos de pólen são médios (26-50 $\mu$ m), sendo *H. nidularioides* alcançando a faixa de grãos de pólen grandes (51-100 $\mu$ m). Entretanto, o tamanho dos grãos de pólen das espécies possui uniformidade (46-51  $\mu$ m) (Tabela 2). Por fim, os grãos de pólen possuem dispersão em mônades e são heteropolares ou isopolares.

**Tabela 2.** Características morfométricas dos grãos de pólen de sete espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae).

Espécie	Vista equatorial <sup>1</sup>		Vista polar <sup>1</sup>		P/E <sup>2</sup>
	Diâmetro polar (P) (µm)	Diâmetro equatorial (E) (µm)	Equatorial maior (µm)	Equatorial menor (µm)	
<i>H. amargosensis</i>	40,27 ± 2,18	50,70 ± 2,24	39,79 ± 2,65	37,98 ± 3,36	0,79
<i>H. belemii</i>	40,00 ± 2,69	46,93 ± 2,97	38,05 ± 2,21	36,66 ± 1,97	0,85
<i>H. capitata</i>	37,71 ± 2,05	50,51 ± 2,89	36,27 ± 1,71	32,97 ± 1,60	0,75
<i>H. ituberaensis</i>	34,39 ± 3,49	49,34 ± 2,62	33,95 ± 3,28	33,53 ± 3,27	0,70
<i>H. nidularioides</i>	42,43 ± 2,17	51,27 ± 2,31	40,95 ± 1,27	39,85 ± 1,46	0,83
<i>H. rosea</i>	34,02 ± 2,29	46,38 ± 2,07	34,00 ± 1,47	30,89 ± 1,56	0,73
<i>H. stellata</i>	33,41 ± 1,37	41,93 ± 1,92	32,34 ± 1,48	32,04 ± 1,41	0,80

Espécie	Espessura <sup>1</sup>		Diâmetro <sup>1</sup>	Número de grãos de pólen <sup>3</sup>
	Exina (µm)	Teto (µm)	Lumem (µm)	
<i>H. amargosensis</i>	1,55 ± 0,24	1,88 ± 0,11	Ausente	111.875 ± 3.750
<i>H. belemii</i>	1,80 ± 0,36	1,79 ± 0,30	Ausente	222.500 ± 7.359
<i>H. capitata</i>	3,07 ± 0,21	2,00 ± 0,08	Ausente	157.750 ± 5.560
<i>H. ituberaensis</i>	1,34 ± 0,26	1,93 ± 0,12	Ausente	125.625 ± 6.884
<i>H. nidularioides</i>	3,17 ± 0,23	1,97 ± 0,21	0,53 ± 0,10	116.875 ± 6.250
<i>H. rosea</i>	3,12 ± 0,26	1,90 ± 0,15	Ausente	82.333 ± 6.666
<i>H. stellata</i>	1,55 ± 0,21	1,86 ± 0,29	2,80 ± 0,54	80.452 ± 3.953

<sup>1</sup>Os grãos de pólen foram submetidos à ACLAC 40 conforme Raynal e Raynal (1979). Os resultados correspondem à média de 25 repetições ± desvio padrão; <sup>2</sup>De acordo com o método descrito por Punt et al. (2007) e Halbritter et al. (2018). <sup>3</sup>Conforme metodologia de Kearns e Inouye (1993).

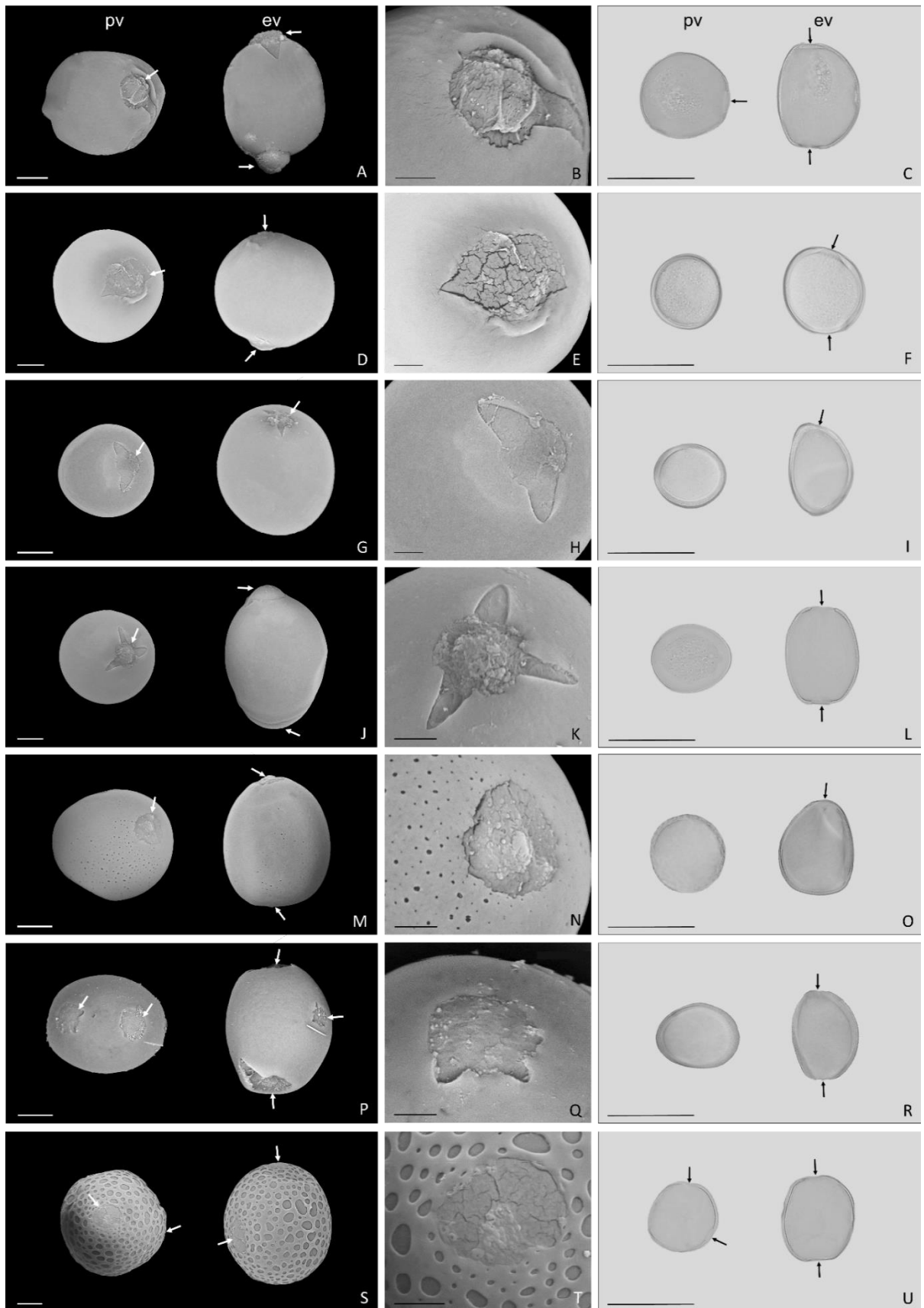
**Tabela 3.** Características morfológicas dos grãos de pólen de sete espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae).

Espécie	Formato <sup>1</sup>	Polaridade <sup>1</sup>	Âmbito <sup>1</sup>	Abertura <sup>1</sup>
<i>H. amargosensis</i>	Suboblato	Isopolar	Elíptico	Triporado
<i>H. belemii</i>	Suboblato	Heteropolar	Circular	Biporado
<i>H. capitata</i>	Oblato	Heteropolar	Elíptico	Biporado
<i>H. ituberaensis</i>	Oblato	Isopolar	Elíptico	Biporado
<i>H. nidularioides</i>	Suboblato	Isopolar	Elíptico	Biporado
<i>H. rosea</i>	Oblato	Isopolar	Elíptico	Triporado
<i>H. stellata</i>	Suboblato	Isopolar	Elíptico	Triporado

Espécie	Exina <sup>1</sup>	Ornamentação <sup>1</sup>	Lumem <sup>1</sup>
<i>H. amargosensis</i>	Eutectada	Psilada	-
<i>H. belemii</i>	Eutectada	Psilada	-
<i>H. capitata</i>	Eutectada	Psilada	-
<i>H. ituberaensis</i>	Eutectada	Psilada	-
<i>H. nidularioides</i>	Eutectada	Perforada	-
<i>H. rosea</i>	Eutectada	Psilada	-
<i>H. stellata</i>	Semitectada	Faveload a reticulada	Poucas báculas

<sup>1</sup> De acordo com Punt et al. (2007) e Halbritter et al. (2018).



**Figura 2.** Morfologia dos grãos de pólen do gênero *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae). A-C) *H. amargosensis*; D-F) *H. belemii*; G-I) *H. capitata*; J-L) *H.*

*ituberaensis*; M-O) *H. nidularioides*; P-R) *H. rosea*; S-U) *H. stellata*; A, D, G, J, M, P, S) grãos de pólen após microscopia de varredura: vista polar (pv) e vista equatorial (ev); B, E, H, K, N, Q, T) detalhe da abertura; C, F, I, L, O, R, U) grão de pólen após acetólise lática: vista polar (pv) e vista equatorial. Barras: A, D, G, J, M, P, S) 10  $\mu\text{M}$ ; B, E, H, K, N, Q, T) 5  $\mu\text{M}$ ; C, F, I, L, O, R, U) 50  $\mu\text{M}$ .

Das sete espécies estudadas, *H. stellata* foi alvo do trabalho de Albert, Ressayre e Nadot (2011) quando investigaram a correlação entre o padrão de abertura dos grãos de pólen e a deposição de calose no estádio de tétrede tardia, porém não há caracterização morfológica nos grãos de pólen. Halbritter (2015; 2016c; d; e; f; g; h; i; j; 2018a; b) realizou estudos em diversas espécies do gênero *Hohenbergia* e apenas *H. capitata* e *H. stellata* foram amostradas na PalDat - Palynological Database. Os padrões morfológicos encontrados neste trabalho (Tabelas 2 e 3) estão de acordo com outras espécies de *Hohenbergia* já estudadas e mencionadas na PalDat.

Não foi observado variação na morfologia polínica dentro da mesma espécie, mesmo em exemplares de diferentes procedências de coleta. Porém foi identificada variação interespecífica, na ornamentação das espécies *H. nidularioides* (eutectada perforada) e *H. stellata* (semitectada foveolada a reticulada). As demais espécies analisadas possuem ornamentação eutectada psilada, sendo uma característica importante no grupo. A ornamentação da exina é considerada um fator importante para estudos palinológicos, pois a estabilidade dessas características se mantém mesmo depois de longo tempo de exposição ao ambiente. Essa informação é muito utilizada em pesquisa da diversidade vegetal, auxiliando no reconhecimento taxonômico e filogenético de espécies, além de contribuir com trabalhos de conservação ex situ e in situ da biodiversidade e da restauração ecológica em habitats naturais e abandonados (SARWAR; TAKAHASHI, 2012; ZHANG et al., 2017; CHOI; RYU; JANG, 2022; JIMÉNEZ-ZAMORA et al., 2023; MOTA et al., 2024). Futuras linhas de investigação na área também indicam aplicações em paleoecologia de montanha, arqueopalinologia, palinologia agroflorestal para a segurança alimentar e paleoecologia de legados históricos (JIMÉNEZ-ZAMORA et al., 2023).

Os dados morfométricos a partir das medições dos grãos de pólen acetolisados demonstram que quase todas as espécies estudadas apresentam grãos de pólen de tamanho médio, variando de  $41,93 \pm 1,92 \mu\text{m}$  em *H. stellata* a  $50,70 \pm 2,24 \mu\text{m}$  em *H. amargosensis*. Apenas *H. nidularioides* apresentou grãos de pólen de tamanho grande, com  $51,27 \pm 2,31 \mu\text{m}$ . A relação diâmetro polar / equatorial (P/E) das amostras resultou em uma variação de 0,70 para *H. ituberaensis* a 0,85 para *H. belemii*, classificando os grãos de pólen de *H. capitata*, *H. ituberaensis* e *H. rosea* como oblato e os de *H. amargosensis*, *H. belemii*, *H. nidularioides* e *H. stellata* como suboblato (Tabelas 2 e 3).

O tamanho, formato e ornamentação polínica estão relacionados ao modo de liberação pelas anteras, aderência aos vetores de polinização (biótico ou abiótico) e ao tamanho do estigma (WODEHOUSE, 1935; CRUDEN, 2000; EDLUND; SWANSON; PREUSS, 2004). De acordo com Cruden (2000), o processo de seleção natural, fez com que plantas com aberturas pequenas nas anteras, que possuíam grãos de pólen pequenos, obtivessem maior sucesso na liberação em comparação àquelas com grãos de pólen médios a grandes. Enquanto isso, plantas com aberturas maiores não encontraram essa barreira, possibilitando a permanência dos grãos de pólen médios a grandes em gerações seguintes (CRUDEN, 2000). Nas espécies estudadas, a liberação dos grãos acontece por meio de uma abertura ao longo da

antera (deiscência longitudinal ou rimosa), facilitando a passagem de grãos médios ou grandes.

Uma relação inversamente proporcional encontrada na literatura e confirmada pela maioria das espécies avaliadas é o tamanho e número de grãos de pólen, sendo que quanto maiores os grãos de pólen menor a sua produção por flor, já que menos grãos de pólen poderão ocupar inteiramente a superfície do estigma (MIONE; ANDERSON, 1992; VONHOF; HARDER, 1995; CRUDEN 1997; 2000; LÓPEZ et al., 1999). Isso foi observado nas espécies aqui tratadas: *H. amargosensis* (50,70  $\mu\text{m}$ / 111.875), *H. belemii* (46,93  $\mu\text{m}$ / 222.500), *H. capitata* (50,51  $\mu\text{m}$ / 157.750), *H. ituberaensis* (49,34  $\mu\text{m}$ / 125.625), *H. nidularioides* (51,27  $\mu\text{m}$ / 116.875) com exceção de *H. rosea* (46,38  $\mu\text{m}$ / 112.333) e *H. stellata* (41,93  $\mu\text{m}$ / 80.452), que tendo o menor tamanho de grão de pólen das amostras avaliadas, possuem também a baixa quantidade deles (Tabela 2).

Quanto à espessura da exina, o menor valor registrado foi em *H. ituberaensis* com  $1,34 \pm 0,26 \mu\text{m}$  e o maior em *H. nidularioides* com  $3,17 \pm 0,23 \mu\text{m}$ . A espessura do teto variou de  $1,79 \pm 0,30 \mu\text{m}$  em *H. belemii* a  $2,00 \pm 0,08 \mu\text{m}$  em *H. capitata*. Os grãos de pólen de *H. nidularioides* e *H. stellata* possuem o diâmetro do lúmen de  $0,53 \pm 0,10 \mu\text{m}$  e  $2,80 \pm 0,54 \mu\text{m}$ , respectivamente (Tabelas 2). A medição da exina após acetólise é possível graças a esporolenina, principal composto presente na camada (EDLUND; SWANSON; PREUSS, 2004; HALBRITTER et al., 2018). Esse biopolímero formado por carbono, hidrogênio e oxigênio é extremamente resistente à decomposição, ataque de patógenos, danos químicos e mecânicos, conferindo também proteção a desidratação e ação dos raios ultravioletas (EDLUND; SWANSON; PREUSS, 2004; HALBRITTER et al., 2018; SOUZA et al., 2021). Características da superfície polínica, como teto e lúmen, são amplamente variáveis em diferentes espécies e por isso são importantes na descrição do grão de pólen (SZIBOR et al., 1998; HESSE et al., 2009). A espessura da exina, teto e lúmen possui relação direta com a conservação dos grãos de pólen, já que pode influenciar na dissecação e ruptura durante a conservação, mais especificamente na técnica da criopreservação (SOUZA et al., 2015).

Em relação a abertura do grão de pólen das amostras coletadas, *H. amargosensis*, *H. stellata* e *H. rosea* são triporadas. As demais espécies analisadas são biporadas. A quantidade, posição e o tipo de abertura são determinados geneticamente e, geralmente se mantêm na espécie, porém existem casos de variação (LEME et al., 2010; HALBRITTER, 2016d; 2016g; 2016j; 2016k; HALBRITTER et al., 2018; MAJEED et al., 2023). Em análise polínica de *H. capitata*, Halbritter (2016b) observou na mesma amostra grãos de pólen biporados e triporados. As aberturas polínicas, além de ter função de passagem do tubo polínico durante a germinação, é local de entrada e saída de umidade durante processos de hidratação ou dessecação, portanto, um maior número de poros nos grãos de pólen o torna mais vulnerável a variações hídricas, sendo esse conhecimento importante, inclusive, em análises da viabilidade dos grãos de pólen para a conservação (EDLUND; SWANSON; PREUSS, 2004).

Para melhor compilação dos dados, a descrição dos grãos de pólen por espécie é apresentada a seguir, reunindo as principais informações extraídas das análises realizadas no material amostral.



*Hohenbergia amargosensis*

Grãos de pólen dispersos em mônade, formato suboblato, isopolar, tamanho médio, âmbito elíptico, triporado, com presença de exina no poro. Poro de formato irregular com rasgos triangulares. Parede eutectada com ornamentação psilada.

*Hohenbergia belemii*

Grãos de pólen dispersos em mônade, formato suboblato, heteropolar, tamanho médio, âmbito circular, biporado, com presença de exina no poro. Poro de formato irregular com rasgos triangulares. Parede eutectada com ornamentação psilada.

*Hohenbergia capitata*

Grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, heteropolar, tamanho médio, âmbito elíptico, biporado, com presença de exina no poro. Poro de formato irregular com rasgos triangulares. Parede eutectada com ornamentação psilada.

*Hohenbergia ituberaensis*

Grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, isopolar, tamanho médio, âmbito elíptico, biporado, com presença de exina no poro. Poro de formato irregular com rasgos triangulares. Parede eutectada com ornamentação psilada.

*Hohenbergia nidularioides*

Grãos de pólen dispersos em mônade, formato suboblato, isopolar, tamanho grande, âmbito elíptico, biporado, poro circular, com presença de exina. Parede eutectada com ornamentação perforada, distribuída de forma irregular em quantidade superior na face polar.

*Hohenbergia rosea*

Grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, isopolar, tamanho médio, âmbito elíptico, triporado, com presença de exina no poro. Poro de formato irregular com rasgos triangulares. Parede eutectada com ornamentação psilada.

*Hohenbergia stellata*

Grãos de pólen dispersos em mônade, formato suboblato, isopolar, tamanho médio, âmbito elíptico, triporado, poro circular, com presença de exina. Parede semitectada com ornamentação faveolada a reticulada.

As descrições polínicas para *H. capitata* e *H. stellata* concordam com as encontradas em estudos palinológicos dessas espécies (ALBERT; RESSAYRE; NADOT, 2011; HALBRITTER, 2016a; b). Em análise dos poros nos grãos de pólen de *H. stellata*, Albert, Ressayre e Nadot (2011) descreveram sua organização espacial como tendo dois poros em ambas as extremidades do eixo proximal dos grãos de pólen e outros dois no eixo ortogonal em posição distal subequatorial.

As sete espécies aqui apresentadas pertencem ao “complexo *H. stellata*” definido na publicação de *H. amargosensis* (SOUZA et al., 2022). Este complexo é mais amplo e abrange as espécies do então “complexo *H. capitata*”, definido por Cavalcante et al. (2021) ao publicar *H. nidularioides*. Essas espécies compartilham uma combinação de caracteres como ramos florais sésseis a pouco estipitados, brácteas florais vermelhas a rosadas (pelo menos no ápice), pétalas geralmente lilases ou às vezes brancas, formato de roseta crateriforme, além da distribuição

geográfica concentrada na Mata Atlântica do estado da Bahia, exceto *H. stellata* que possui uma distribuição geográfica mais ampla como na Venezuela, Antilhas e Trindade e Tobago (SOUZA et al., 2022).

Ao comparar *H. stellata* com *H. amargosensis*, estas espécies diferem principalmente pelo hábito de crescimento, número de folhas, tamanho dos espinhos, tamanho da inflorescência e comprimento das brácteas primárias (SOUZA et al., 2022). Em relação a morfologia polínica, tais espécies são semelhantes, exceto pela ornamentação: *H. amargosensis* possuindo exina eutectada psilada e *H. stellata* semitectada foveolata a reticulada, sendo esta última uma característica exclusiva entre as espécies estudadas. *Hohenbergia ituberaensis* está intimamente correlacionada com *H. amargosensis* e difere principalmente pelo seu porte, tamanho do pedúnculo, tamanho da inflorescência e disposição dos ramos, além da coloração das pétalas e das brácteas florais (SOUZA et al., 2022). Em relação às características palinológicas *H. amargosensis* possui grãos de pólen triporados, enquanto *H. ituberaensis* possuem grãos biporados (Tabelas 2 e 3).

*Hohenbergia nidularioides* está proximamente relacionada com *H. belemii* e *H. capitata* e taxonomicamente pode ser distinta pelo hábito de crescimento, tamanho da planta, arranjo dos ramos florais e comprimento do escapo floral (CAVALCANTE et al., 2021). Além dessas características pode-se acrescentar os caracteres morfológicos como: grãos de pólen grandes e ornamentação perforada em *H. nidularioides*, enquanto *H. belemii* e *H. capitata* possuem ornamentação psilada; *H. capitata* possuindo formato oblado enquanto *H. nidularioides* e *H. belemii* possuem formato suboblato; e *H. belemii* possuindo âmbito circular, enquanto as outras duas espécies possuem âmbito elíptico.

## Produção de grãos de pólen

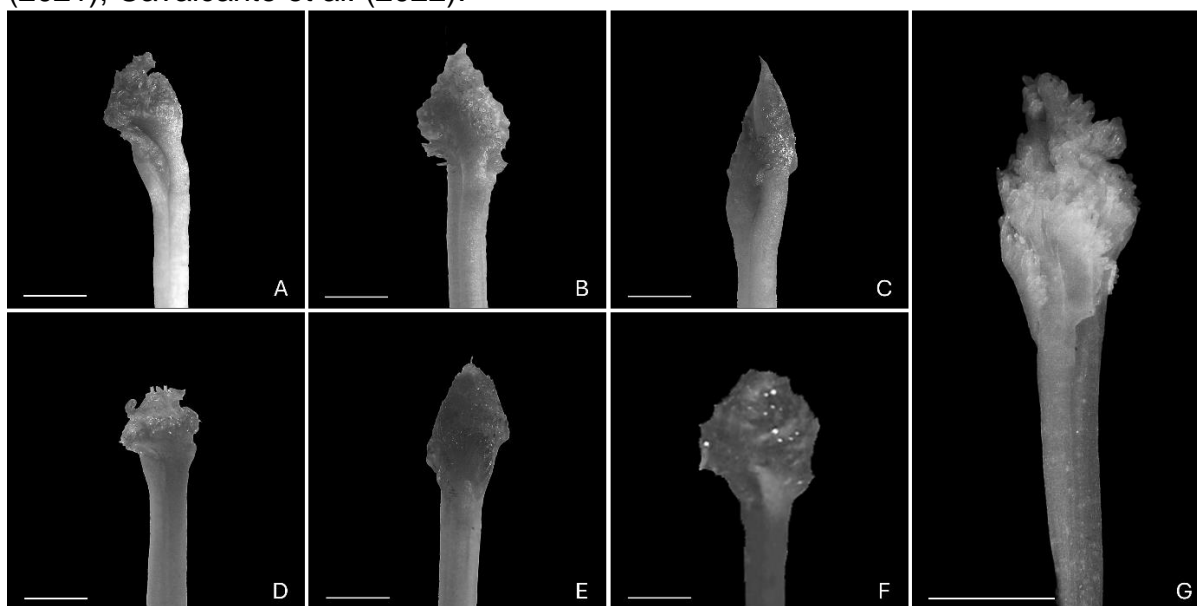
O número de grãos de pólen por flor variou a cada espécie significativamente, com o maior registro em *H. belemii* de 222.500 grãos e menor em *H. stellata* de 80.452 (Tabela 2). A variação no número de grãos de pólen é comum, ainda que entre plantas de mesmo gênero ou diferentes genótipos da mesma espécie (NOGUEIRA et al., 2015). Em Bromeliaceae, a diferença na quantidade de grãos de pólen por flor também foi registrada em espécies do mesmo gênero, com trabalhos em *Aechmea* (SOUZA et al., 2017), *Tillandsia* (SOUZA et al., 2020a) e *Lymania* (MOTA et al., 2024).

A produção de grãos de pólen está diretamente relacionada com fatores como: a espécie estudada, o ambiente, condições climáticas, altitude, tamanho dos grãos de pólen, dentre outros (ALBUQUERQUE JUNIOR et al., 2010; KHANDURI, 2011). Plantas que possuem polinizadores específicos com área corporal maior produzem mais grãos de pólen por flor do que aquelas que o agente polinizador possui área corporal menor (CRUDEN, 2000; SOUZA et al., 2020a). Segundo Cruden (2000), isso está relacionado a melhor garantia de que a região do polinizador coberta de grãos de pólen irá atingir o estigma.

Além do mais, os grãos de pólen enfrentam diversos riscos de perda, que incluem danos físicos, consumo por polinizadores, competição com outros grãos de pólen na superfície do estigma e rejeição pelo estigma por meio da incompatibilidade, o que leva a considerar uma alta produção em grãos de pólen como uma estratégia de eficiência reprodutiva (COCUCCI et al., 2014; DOUCET et al., 2016; HARDER et al., 2016; TONNABEL et al., 2021; MOTA et al., 2023).

### Morfometria do estigma

Os estigmas das sete espécies de *Hohenbergia* estudadas são do tipo conduplicado-espiral (Figura 3 e Tabela 4), variando apenas na morfometria e na coloração que varia de branco a lilás. O padrão conduplicado-espiral é também compartilhado para outras espécies do gênero *Hohenbergia* avaliadas por Leme e Till (1996), Leme (2003), Luther e Norton (2005), Leme et al. (2010), Cavalcante e Silva (2021), Cavalcante et al. (2022).



**Figura 3.** Estigmas do gênero *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) fotografados em estereomicroscópio. A) *H. amargosensis*; B) *H. belemii*; C) *H. capitata*; D) *H. ituberaensis*; E) *H. nidularioides*; F) *H. rosea*; G) *H. stellata*. Barras: 1 mm.

**Tabela 4.** Caracteres morfométricos do estigma e estilete de sete espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae). (CM) Comprimento, (Ø) Diâmetro.

Espécie	Tipo de estigma <sup>1</sup>	Estigma (mm)		Estilete (mm)		Cor do estigma
		CM	Ø	CM	Ø	
<i>H. amargosensis</i>	Conduplicado-espiral	1,85	1,41	12,47	0,51	Lilás
<i>H. belemii</i>	Conduplicado-espiral	2,07	1,46	14,38	0,66	Branco
<i>H. capitata</i>	Conduplicado-espiral	2,26	1,12	14,52	0,76	Lilás
<i>H. ituberaensis</i>	Conduplicado-espiral	1,18	1,55	12,09	0,76	Branco
<i>H. nidularioides</i>	Conduplicado-espiral	1,86	1,37	17,41	0,62	Branco
<i>H. rosea</i>	Conduplicado-espiral	2,55	1,67	19,21	0,81	Lilás
<i>H. stelatta</i>	Conduplicado-espiral	2,21	1,50	14,30	0,50	Lilás
CV (%)		20,69	10,84	13,33	18,09	

<sup>1</sup> De acordo com Brown e Gilmartin (1984; 1989) e Barfuss et al. (2016).

Especificamente em *H. rosea* e *H. stellata*, foi observada uma importante relação reprodutiva, já discutida por Cruden (2000) em estudos sobre biologia reprodutiva com diversas famílias vegetais. Plantas com menor produção de grãos de pólen possuem uma área maior de estigma, para que haja melhor aproveitamento do

recurso (CRUDEN, 2000). Dentre as sete espécies, *H. rosea* possui maior diâmetro ( $\emptyset$ ) e comprimento (CM) do estigma (CM = 2,55mm,  $\emptyset$  = 1,67mm) em contrapartida aos menores valores que foram observados em *H. ituberaensis* (CM = 1,18mm,  $\emptyset$  = 1,55mm) (Tabela 4).

Dentre as funções do estigma está a ação de reter os grãos de pólen, manter a hidratação e a germinação, fornecer pontos de entrada e orientação para os tubos polínicos em direção aos ovários (EDLUND; SWANSON; PREUSS, 2004). Além disso, em casos específicos, podem impedir a germinação ou continuidade do crescimento do tubo polínico para evitar uma fecundação indesejada, como no caso da autoincompatibilidade ou incongruência (EDLUND; SWANSON; PREUSS, 2004; MOTA et al., 2023).

Foi observada uma pequena variação nos tamanhos dos estiletos das espécies, mantendo a relação entre o comprimento do estigma (EG) e do estilete (EL), com *H. ituberaensis* em menor valor (EG= 1,18 mm e EL= 12,09 mm) e *H. capitata* em maior (EG= 2,26 mm e EL= 14,52 mm). Uma exceção é *H. nidularioides* que possui comprimento estigma/estilete inversamente proporcional (EG= 1,86 mm e EL= 17,41 mm) (Tabela 4). Características morfométricas do estigma e estilete podem afetar a polinização, favorecer o tipo de fecundação que mais beneficie a espécie e dificultar cruzamentos interespecíficos (PARTON et al. 2001, SOUZA et al. 2016, 2017). Além disso, o posicionamento do estigma em relação às anteras pode ou não cooperar para a autofecundação na planta (SOUZA et al., 2020b).

### **Germinação in vitro**

As análises estatísticas demonstram que a germinação polínica in vitro de todas as espécies ocorreu de igual modo nos dois meios de cultura utilizados, com diferenças significativas na antese de *H. belemii* (BM 72,3%; SM 85,9%) e *H. rosea* (BM 86,7%; SM 70,7%), e na pós-antese, de *H. rosea* (BM 18,1%; SM 10,7%). Ainda que a variação não seja significativa, é possível verificar que a maioria das espécies apresentaram maior percentual de germinação no meio de cultura SM (SOARES et al., 2008), com exceção da *H. ituberaensis*, *H. rosea* e *H. stellata* que tiveram seus grãos de pólen com melhor germinação em meio de cultura BM (PARTON et al., 2002) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Porcentagem de germinação in vitro e crescimento do tubo polínico em sete espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) em dois meios de cultura (BM e SM) e em três estádios florais de desenvolvimento (pré-antese, antese e pós-antese).

Espécie	Meio de Cultura	Germinação in vitro (%)		
		Pré-antese	Antese	Pós-antese
<i>H. amargosensis</i>	BM	33,7aB	72,0aA	3,9aC
	SM	27,0aB	79,9aA	4,0aC
<i>H. belemii</i>	BM	34,9aB	72,3bA	5,7aC
	SM	41,8aB	85,9aA	10,3aC
<i>H. capitata</i>	BM	75,5aA	84,5aA	35,5aB
	SM	76,2aB	89,0aA	41,2aC
<i>H. ituberaensis</i>	BM	52,2aB	76,1aA	33,8aC
	SM	44,8aB	70,2aA	36,8aB
<i>H. nidularioides</i>	BM	29,3aB	87,6aA	29,2aB
	SM	29,8aB	92,4aA	28,8aB
<i>H. rosea</i>	BM	25,1aB	86,7aA	18,1aB
	SM	17,3aB	70,7bA	10,7bB
<i>H. stellata</i>	BM	26,8aB	86,3aA	21,2aB
	SM	25,1aB	86,7aA	18,1aB
CV (%)		23,21		
<b>Comprimento do tubo polínico (mm)</b>				
<i>H. amargosensis</i>	BM	0,85bB	1,56bA	0,38bC
	SM	1,37aB	1,85aA	0,56aC
<i>H. belemii</i>	BM	0,32bB	0,55bA	0,26bC
	SM	0,58aB	1,07aA	0,41aC
<i>H. capitata</i>	BM	0,45bB	0,55bA	0,46bB
	SM	0,48aC	0,99aA	0,63aB
<i>H. ituberaensis</i>	BM	0,25bA	0,27bA	0,21bB
	SM	0,36aC	0,56aA	0,49aB
<i>H. nidularioides</i>	BM	0,39bA	0,41bA	0,15bB
	SM	0,52aA	0,52aA	0,37aB
<i>H. rosea</i>	BM	0,18bC	0,50bA	0,28bB
	SM	0,38aC	1,08aA	0,92aB
<i>H. stellata</i>	BM	0,20bC	0,46bA	0,33bB
	SM	0,40aC	1,03aA	1,00aB
CV (%)		11,75		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna dentro do mesmo fator espécie e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste F e Tukey ( $p < 0,01$ ), respectivamente.

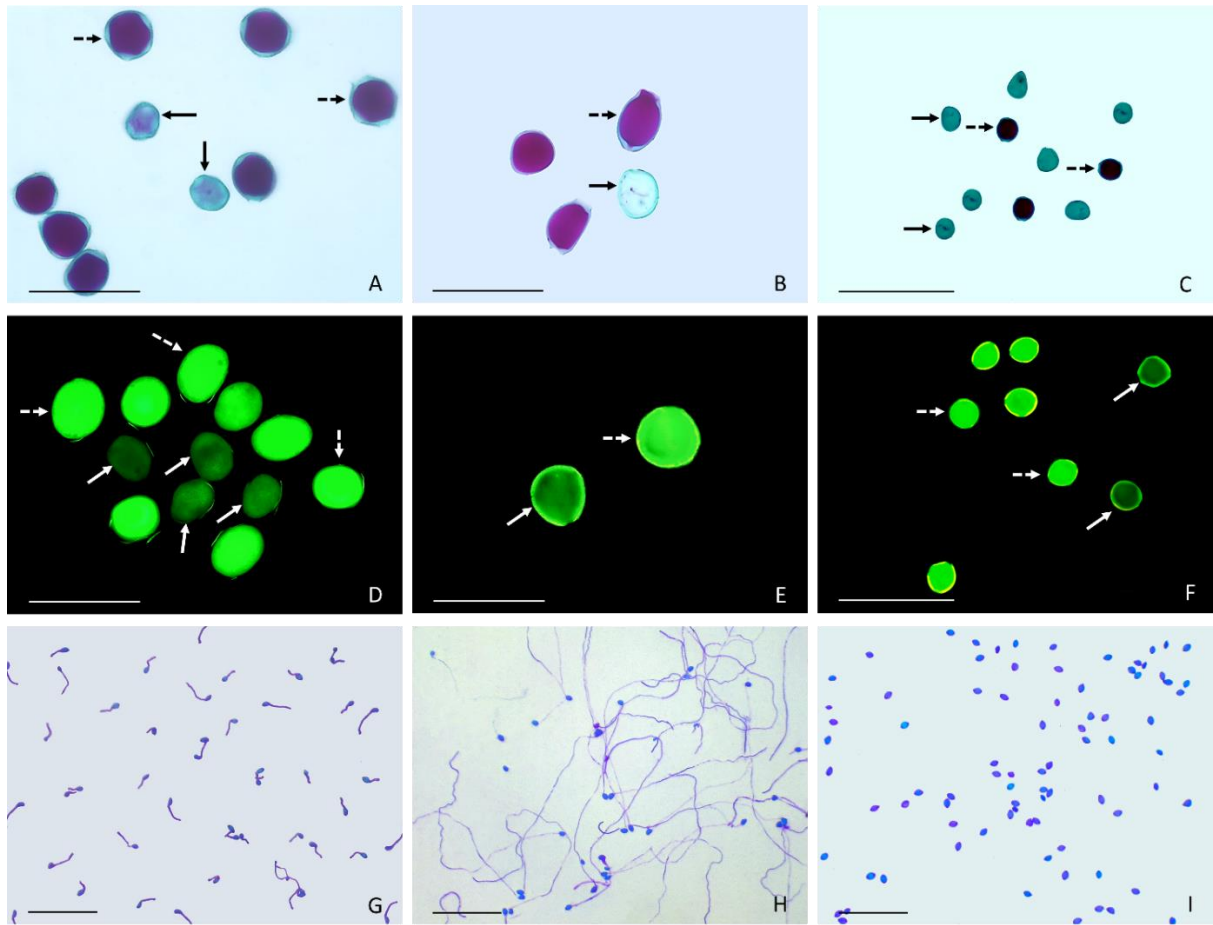
\* Meios de cultura: BM (PARTON et al., 2002). SM (SOARES et al., 2008).

O resultado da germinação polínica obtida demonstra que espécies diferentes respondem de forma distinta ao meio de cultura, sendo necessário uma adequação nas concentrações das substâncias conforme a necessidade do material vegetal utilizado (DAFNI, 1992; SOUZA et al., 2017; FERREIRA et al., 2021; MOTA et al., 2024). Trabalhos com Bromeliaceae apontam que algumas espécies atendem melhor à germinação polínica em meio BM e outras em meio SM, ainda que sejam do mesmo gênero (PARTON et al., 2002; SOUZA et al., 2017; SOUZA et al., 2020a; MOTA et al., 2024). Assim, os dados indicam que o meio SM tende a ser melhor para a germinação

polínica de *H. amargosensis*, *H. belemii*, *H. capitata* e *H. nidularioides*. As demais espécies possuem melhor germinação dos grãos de pólen em meio BM.

Após 24 horas de incubação todas as espécies apresentaram maior comprimento do tubo polínico no meio de cultura SM (Tabela 5 e Figura 4). Esse mesmo resultado foi identificado por Bastos et al. (2017) em avaliação da viabilidade polínica de *Alcantarea nahoumii* (Leme) Grant e Souza et al. (2020a) em espécies de *Tillandsia*. Além da sacarose e ácido bórico ( $H_3BO_3$ ), ingredientes também encontrados na composição do meio de cultura BM (PARTON et al., 2002), o meio SM contém nitrato de cálcio, sulfato de magnésio e nitrato de potássio (SOARES et al., 2008). O nitrato de cálcio atua principalmente nas características fisiológicas, estruturando o crescimento do tubo polínico e diminuindo a sensibilidade de variações decorrentes do meio externo (BHOJWANI; BHATNAGAR 1974; STEINHORST; KUDLA, 2013), permitindo que se desenvolva em condições próximas àquelas encontradas no estigma. Além disso, a sacarose está associada ao fornecimento de energia para os processos de crescimento, diferenciação e morfogênese celular e o ácido bórico, juntamente com a sacarose, reage com a membrana plasmática e promove maior crescimento do tubo polínico (HESLOP-HARRISON; HESLOP-HARRISON; SHIVANNA, 1984; DAFNI, 1992; ZAMBON et al., 2014; SOUZA et al., 2017).

Em relação aos estádios de desenvolvimento floral, todas as espécies apresentaram maior porcentagem de germinação e maior comprimento do tubo polínico na antese. Este resultado corrobora outros estudos realizados em Bromeliaceae que registraram maior porcentagem de germinação polínica na antese em *Alcantarea nahoumii* (BASTOS et al., 2017), diferentes espécies de *Aechmea*, *Ananas* e *Vriesea* (SOUZA et al., 2017), *Tillandsia* (SOUZA et al., 2020a) e *Lymania* (MOTA et al., 2024). De acordo com as análises, não houve diferença significativa na porcentagem de germinação polínica entre pré-antese e pós-antese em *H. rosea*, *H. nidularioides* e *H. stellata* (Tabela 5). Em relação ao comprimento do tubo polínico de *H. nidularioides* não houve diferença significativa entre os estádios de antese e pré-antese. Em *H. amargosensis* e *H. belemii*, o tubo polínico desenvolveu-se melhor em pré-antese do que em pós-antese, oposto ao que aconteceu com *H. capitata*, *H. rosea* e *H. stellata* que obtiveram maior tubo polínico em pós-antese do que na pré-antese. Em estudo dos grãos de pólen de *Tillandsia*, Souza et al. (2020a) registrou algumas espécies com maior viabilidade polínica na pré-antese em comparação com a pós-antese e outras com comportamento antagônico.



**Figura 4.** Viabilidade dos grãos de pólen de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae). A-F) Testes histoquímicos evidenciando grãos de pólen viáveis (seta tracejada) e inviáveis (seta contínua). A-C) Solução de Alexander 2%. D-F) Diacetato de fluoresceína. G-I) Germinação de pólen in vitro em meios de cultura BM (PARTON et al., 2002) e SM (SOARES et al., 2008). A) *H. stellata*, evidenciando altas taxas de viabilidade com solução de Alexander 2% na antese. B) *H. capitata*, apresentando grãos de pólen viáveis e inviáveis na antese. C) *H. amargosensis*, evidenciando baixa viabilidade dos grãos de pólen na pós-antese. D) *H. belemii*, evidenciando altas taxas de viabilidade com diacetato de fluoresceína na antese. E) *H. amargosensis*, pós-antese com diacetato de fluoresceína. F) *H. stellata*, evidenciando grãos de pólen viáveis e inviáveis (seta) na antese. G) *H. capitata*, evidenciando alta porcentagem de germinação dos grãos de pólen em meio de cultura BM na pré-antese. H) *H. amargosensis*, evidenciando alta porcentagem de germinação dos grãos de pólen em meio de cultura SM na antese. I) *H. belemii*, apresentando baixa porcentagem de germinação em meio de cultura BM na pós-antese. Barras: A, B, D, E) 100 µM; C, F) 200 µM; G, H, I) 0,50 mM.

O maior percentual de germinação na antese foi obtido em *H. nidularioides* (BM 87,6%; SM 92,4%), já *H. capitata* apresentou alta porcentagem de germinação na pré-antese (BM 75,5%; SM 76,2%), não diferenciando significativamente da antese em meio de cultura BM 84,5%. O comprimento do tubo polínico variou de acordo com cada espécie. Na antese, *H. amargosensis* se destacou com o maior comprimento do tubo polínico (BM 1,56 mm; SM 1,85 mm) ao contrário de *H. ituberaensis* que apresentou o menor comprimento (BM 0,27 mm; SM 0,56 mm). Os dados de germinação do grão de pólen variam também conforme a espécie, obedecendo a

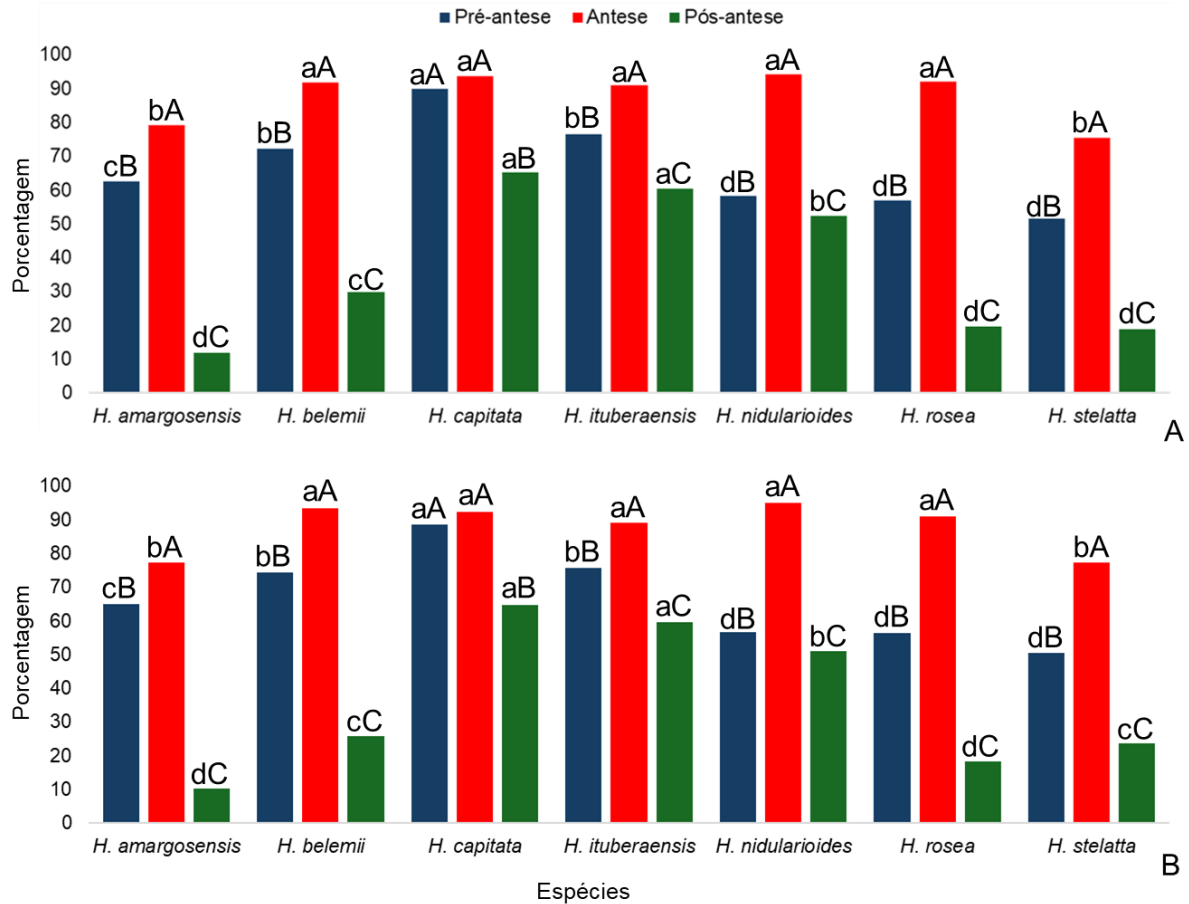
fisiologia da planta, como pode ser verificado em diversos estudos na área (ZAMBON et al., 2014; BASTOS et al., 2017; SOUZA et al., 2017; SOUZA et al., 2020a; FERREIRA et al., 2021; MOTA et al., 2024). Avaliar a viabilidade polínica é crucial para compreender a forma de fertilização de cada espécie, já que demonstra as chances dos grãos de pólen germinarem na superfície do estigma (DAFNI, 1992; DRESSELHAUS; FRANKLIN-TONG, 2013; JANY; NELLES; GORING, 2019).

Quando o meio de cultura não reflete as condições exigidas pelo grão de pólen, a porcentagem máxima de germinação polínica pode não ser alcançada, ainda que ele esteja viável (DAFNI, 1992). Esse fato não invalida a confiabilidade da germinação in vitro, principalmente no que se refere à verificação de qual estágio floral o grão de pólen encontra-se mais viável, demonstrando que tanto a germinação in vitro quanto os testes histoquímicos são confiáveis para verificar a viabilidade polínica e que um confirma o outro. Além disso, fatores como material vegetal e condições ambientais podem interferir na real característica da planta e diminuir a germinação dos grãos de pólen (DAFNI; FIRMAGE, 2000; SOARES et al., 2011; SOUZA et al., 2017).

### **Testes histoquímicos**

Foi observado um padrão na viabilidade polínica para os três estágios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese) e as sete espécies de *Hohenbergia*. Entre os dois testes histoquímicos utilizados (solução de Alexander e diacetato de fluoresceína) não foi possível observar diferenças significativas, evidenciando assim uma confiabilidade entre os dois métodos avaliados (Figura 5). Os valores dos testes histoquímicos dos grãos de pólen são próximos ou superiores aos resultados da germinação in vitro (Figura 5, Tabela 5).





**Figura 5.** Viabilidade dos grãos de pólen por dois testes histoquímicos [Solução de Alexander (A) e Diacetato de Fluoresceína (B)] em três estádios de desenvolvimento floral de sete espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae). Médias seguidas pela mesma letra minúsculas comparam as espécies e maiúsculas os estádios de desenvolvimento floral não diferem entre si pelo teste de agrupamento Scott-Knott ( $p < 0,01$ ) e teste de média Tukey ( $p < 0,01$ ), respectivamente.

As flores em antese apresentam grãos de pólen com maior porcentagem de viabilidade para todas as espécies, independente do teste histoquímico utilizado (Figura 5). Em contrapartida, a menor viabilidade foi observada em pós-antese para todas as espécies. Durante a antese, os grãos de pólen de *H. belemii*, *H. capitata*, *H. ituberaensis*, *H. nidularioides* e *H. rosea* registraram viabilidade superior a 90% nos dois testes histoquímicos. Também na pré-antese houve alto percentual de viabilidade polínica, superior a 70%, em *H. belemii*, *H. capitata* e *H. ituberaensis*. Os menores valores foram encontrados na viabilidade dos grãos de pólen de *H. amargosensis* em pós-antese, tanto para a solução de Alexander (11,9%) quanto para o FDA (10,2%) (Figura 5). Não foi verificada diferença significativa na pré-antese e antese em *H. capitata* com valores superiores a 90%. As espécies *H. capitata* e *H. ituberaensis* obtiveram viabilidade polínica superior a 60% em todos os estádios de desenvolvimento floral, nos dois testes histoquímicos. Com exceção de *H. capitata*, todas as espécies apresentaram diferença significativa entre os três estádios de desenvolvimento, sendo a antese aquele com maior porcentagem de grãos de pólen viáveis (Figura 5).

A viabilidade polínica é considerada alta quando seu percentual é superior a 70%, média quando está entre 31% e 69% e baixa quando é abaixo de 30% (SOUZA;

PEREIRA; MARTINS, 2002; HISTER; TEDESCO, 2016), mas esses valores devem ser interpretados com cautela, pois vários fatores podem influenciar, principalmente o número de grãos de pólen presentes nas flores. Os dados da germinação *in vitro* e testes histoquímicos ao sugerirem a antese como estágio de maior eficiência dos grãos de pólen, podem subsidiar estudos voltados para a conservação, seja pelo uso de baixas temperaturas ou criopreservação, como mencionados por Souza et al., 2015.

A solução de Alexander é composta por três corantes: a fucsina ácida (cora o citoplasma de vermelho), o verde malaquita (tinge a parede dos grãos de pólen de verde) e o Orange G (intensifica a coloração). Assim os grãos de pólen viáveis são corados de roxo e inviáveis de azul esverdeado (ALEXANDER, 1969; RATHOD et al., 2018) (Figura 4 A-C). Souza et al. (2017) ao compararem a solução Alexander com outros corantes, inferiram que o Alexander é um bom teste histoquímico, pois apresentam valores próximos à germinação *in vitro* além de distinguir facilmente os grãos de pólen viáveis e inviáveis. Mota et al. (2024) estudando a viabilidade polínica em nove espécies de *Lymania*, confirmaram que a solução de Alexander e o diacetato de fluoresceína são bons indicadores de viabilidade polínica, não apresentando diferenças significativas com a germinação *in vitro* dos grãos de pólen.

O teste com diacetato de fluoresceína (FDA) é verificado a partir da observação da integridade da membrana celular e da respiração enzimática (HESLOP-HARRISON; HESLOP-HARRISON, 1970). O corante ao atravessar as membranas é hidrolisado pelas esterases intercelulares e a fluoresceína se acumula no citoplasma (IMPE et al., 2020). Grãos de pólen com membranas plasmáticas intactas são considerados viáveis e refletem uma cor verde brilhante, já os inviáveis emitem luz atribuível à fluorescência da exina e à pequena adsorção de fluoresceína pelo conteúdo celular residual (HESLOP-HARRISON; HESLOP-HARRISON, 1970) (Figura 4 D-F).

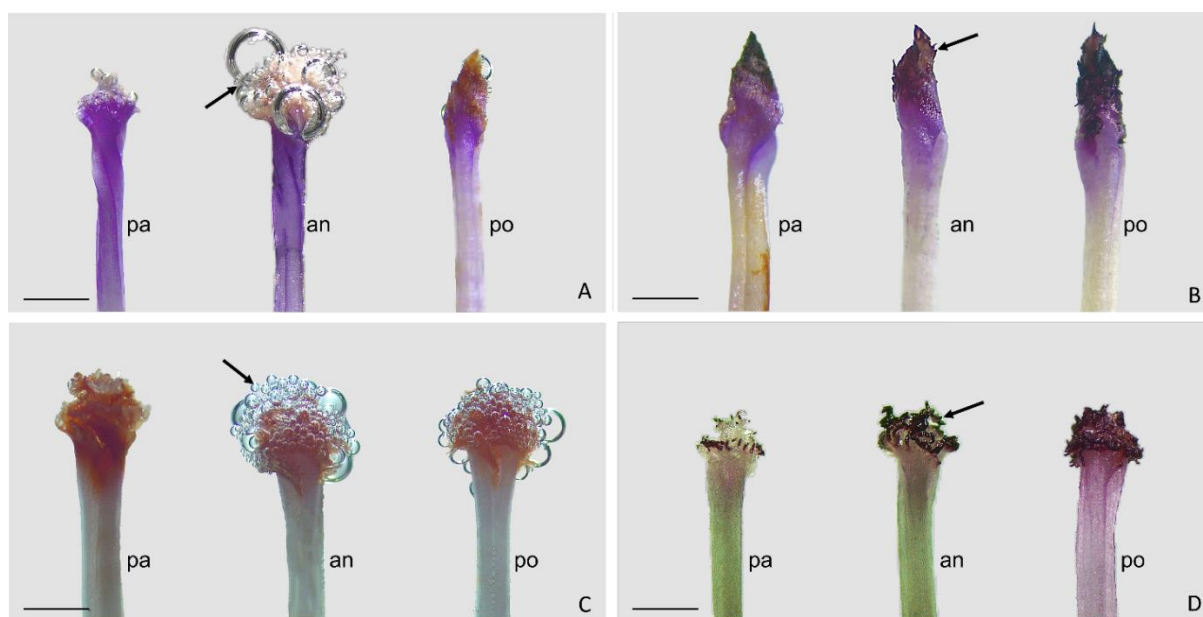
### **Receptividade do estigma**

Os métodos utilizados mostraram-se eficientes para determinação da receptividade do estigma das sete espécies de *Hohenbergia*, nos diferentes estádios de desenvolvimento floral, com resultados semelhantes nas duas metodologias utilizadas (Tabela 6 e Figura 6). Dafni e Maués (1998), Souza et al. (2016) e Souza et al. (2020b) não recomendam o uso individual do peróxido de hidrogênio como indicador da receptividade do estigma, pois pode reagir de forma diferente dependendo da coleta do estigma, idade da planta e não identificar com exatidão a área receptora, devendo ser combinado com outras técnicas. No entanto, os resultados aqui apresentados comprovam a eficiência dessa solução nas espécies estudadas, já que não diferenciou da solução de  *$\alpha$ -nafthil-acetate + fast blue B salt* (Figura 6).

**Tabela 6.** Receptividade do estigma de seis espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae), avaliadas na pré-antese, antese e pós-antese por duas diferentes metodologias.

Espécie	Peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )			$\alpha$ -naftil-acetate + fast blue B salt		
	Pré-antese	Antese	Pós-antese	Pré-antese	Antese	Pós-antese
<i>H. amargosensis</i>	+	+++	+++	+	+++	+++
<i>H. belemii</i>	+	+++	+++	+	+++	+++
<i>H. capitata</i>	+	+++	+	+	+++	+
<i>H. ituberaensis</i>	+	+++	+++	+	+++	+++
<i>H. nidularioides</i>	++	+++	+++	++	+++	+++
<i>H. rosea</i>	-	+++	+++	-	+++	+++
<i>H. stelatta</i>	+	+++	+++	+	+++	+++

Dafni e Maués (1998): (-) sem reação; (+) resposta positiva fraca; (++) resposta positiva forte; (+++) resposta positiva muito forte.



**Figura 6.** Receptividade do estigma com peróxido de hidrogênio (A, C) e solução de  $\alpha$ -naftil-acetate + fast blue B salt (B, D) em *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae). A, B) *H. capitata*. C, D) *H. ituberaensis*. pa = pré-antese, an = antese, po = pós-antese. Barras: 1 mm.

Todas as espécies apresentaram resposta positiva muito forte na antese e quase todas, resposta positiva muito forte na pós-antese, com exceção de *H. capitata* que resultou em resposta positiva fraca (Tabela 6). Em pré-antese, *H. nidularioides* apresentou resposta positiva forte, *H. rosea* sem reação e as demais espécies resposta positiva fraca (Tabela 6). Parton et al. (2001), Souza et al. (2016) e Souza et al. (2020b) estudando, receptividade do estigma em espécies de Bromeliaceae, observaram que a maioria do material examinado resultou em resposta positiva muito forte na antese, mesmo quando a antese era noturna. Parton et al. (2001) e Souza et al. (2016) constataram ainda que em algumas espécies, o estigma manteve-se

receptivo até dois dias após a antese, com germinação de grãos de pólen suficiente para a fertilização, porém poucos óvulos foram fecundados. Esses mesmos autores também perceberam variação de baixa à alta na porcentagem de germinação de grãos de pólen no estigma na pré-antese.

As duas metodologias utilizadas reconhecem atividades enzimáticas. O peróxido de hidrogênio reage com a enzima peroxidase presente no estigma e identifica a reação positiva pela presença de bolhas de ar liberadas durante a sua imersão na solução (Figura 6 A e C). Já o  $\alpha$ -naftil-acetate + fast blue B salt em contato com a esterase, colore principalmente, a região das papilas estigmáticas, de marrom escuro, que pode estar relacionada à presença dos exsudatos (Figura 6 B e D). A coleta do material para ambos os métodos deve ser com máximo de cuidado, pois a existência de danos nos tecidos pode levar a um falso positivo (DAFNI; MAUÉS, 1998; SOUZA et al., 2016).

Os estigmas de todas as espécies analisadas mantiveram-se úmidos da antese até o fechamento das flores. Essa é uma característica da maioria das Bromeliaceae registradas nos estudos de Heslop-Harrison e Shivanna (1977) e Souza et al. (2020b). Estigmas úmidos são comumente cobertos por exsudatos de células apoptóticas e impedem a polinização inadequada em determinadas etapas (EDLUND; SWANSON; PREUSS, 2004).

O estigma receptivo com reação positiva muito forte combinada com a maior porcentagem de grãos de pólen viáveis no mesmo horário (antese floral) permite uma maior possibilidade de cruzamentos em condições naturais ou controladas e consequentemente um maior número de sementes. Os dados apresentados contribuem com futuros trabalhos de melhoramento vegetal, pois expõem o potencial das espécies estudadas para realização de cruzamentos interespecíficos e intergenéricos.

## CONCLUSÕES

Existe um padrão nas características polínicas nas espécies estudadas. Todos os grãos de pólen são dispersos em mônades, porados e com membrana da abertura ornamentada. As variações referem-se ao tamanho, formato, âmbito, polaridade e quantidade de poros e ornamentação da exina.

Os estigmas das espécies de *Hohenbergia* possuem diferenças na cor e no tamanho, incluindo o tamanho do estilete. Já em relação ao tipo, todas as espécies são do tipo conduplicado-espiral.

Os grãos de pólen apresentaram maior viabilidade na antese, independente da metodologia empregada.

A receptividade do estigma demonstrou maior atividade enzimática na antese e pós-antese para a maioria das espécies. Apenas *H. capitata* apresentou maior atividade enzimática apenas na antese.

Este estudo exhibe dados qualitativos e quantitativos dos grãos de pólen e estigma de espécies de *Hohenbergia* que são importantes para a taxonomia do grupo, bem como subsidiar estudos reprodutivos e de conservação.

## REFERÊNCIAS

ALBERT, B.; RESSAYRE, A.; NADOT, S. Correlation between pollen aperture pattern and callose deposition in late tetrad stage in three species producing atypical pollen grains. **American Journal of Botany**, Oxford, v. 98, p. 189–196, 2011.

- ALBUQUERQUE JUNIOR, C. L.; DANERDI, F.; DANTAS, A. C. M.; NODARI, R. O. Número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1255-1260, 2010.
- ALEXANDER, M.P. Aversatile stain for pollen fungi, yeast and bactéria. **Stain Technology**, Baltimore, v. 55, n. 1, p.13-18,1980.
- BAACK, E.; MELO, M. C.; RIESEBERG, L. H.; ORTIZ-BARRIENTOS, D. The origins of reproductive isolation in plants. **New Phytologist**, Oxford, v. 207, n. 4, p. 968–984, 2015.
- BARFUSS, M. H. J.; TILL, W.; LEME, E. M. C.; PINZÓN, J. P.; MANZANARES, J. M.; HALBRITTER, H.; SAMUEL, R.; BROWN, G. K. Taxonomic revision of Bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. **Phytotaxa**, Auckland, v. 279, n. 1, p. 1–97, 2016.
- BASTOS, M. J. S. M; BASTOS, L. P.; SOUZA, E. H.; SOARES, T. L.; MORAIS, D. V.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C. Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, Alta Floresta, v. 31, p. 665-676, 2017.
- BHATTACHARYA, A.; MANDAL, S. Stigma form and surface in relation to in vivo Phytomorphology: **An International Journal of Plant Morphology**, Delhi, v. 53, n. 2, p. 179-185, 2003.
- BHOJWANI, S. S.; BHATNAGAR, S. P. **The embryology of angiosperms**. New Delhi, 1974. 264p.
- BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, New York, v. 50, p. 859-865, 1963.
- BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Stigma structure and variation in Bromeliaceae- Neglected taxonomic caracteres. **Brittonia**, New York, v. 36, p. 364-374, 1984.
- BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Stigma types in Bromeliaceae: a systematic survey. **Systematic Botany**, Notre Dame, v. 14, n. 1, p. 110-132, 1989.
- CAVALCANTE, B. P.; SILVA, K. R.; PEREIRA, M. A.; SOUZA, E. H.; VERSIEUX, L. M; MARTINELLI, A. P. Establishment of the *Hohenbergia capitata* complex (Bromeliaceae) with notes on leaf anatomy and description of a new endangered species. **Phytotaxa**, Auckland, v. 518, n. 3, p.119-126, 2021.
- CAVALCANTE, B. P.; SILVA, K.; SOUZA, E. H.; VERSIEUX, L.; MARTINELLI, A. *Hohenbergia erecta* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a New Once-branched Species from Chapada Diamantina, Bahia State, Brazil. **Tropical Plant Biology**, New York, v.15, n.4, p.1-7, 2022.
- CAVALCANTE, B. P.; SILVA, M.F.D. *Hohenbergia densa* (Bromeliaceae), a new species from Rio Grande do Norte, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v.520, n.2, p.203–208, 2021.
- CHOI, B.; RYU, J.; JANG, T. S. Can pollen exine ornamentation contribute to species delimitation in Korean Iris L. taxa (Iridaceae)? **Palynology**, New York, v. 46, n. 4, p. 1-9, 2022.

- COCUCCI, A. A.; MARINO, S.; BARANZELLI, M.; WIEMER, A. P.; SÉRSIC, A. The buck in the milkweed: evidence of male–male interference among pollinaria on pollinators. **New Phytologist**, Oxford, v. 203, p. 280–286, 2014
- COYNE, J. A.; ORR, H. Á. **Speciation**. Sunderland, Sinauer Associates. 2004
- CRIA, Centro de Referência e Informação Ambiental. **Specieslink network**, 2023. Disponível em: [specieslink.net/search](https://specieslink.net/search). Acesso em: 18 dez 2023.
- CRUDEN, R. W. Implications of evolutionary theory to applied pollination ecology. In: Richards K. W. (ed.) Proceedings of the 7th International Symposium on Pollination. **Acta Horticulturae**, v.437, p. 27-51, 1997.
- CRUDEN, R. W. Pollen grains: why so many? **Plant Systematics and Evolution** v.222, p. 143-165, 2000.
- DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach** (the practical approach series). New York: University Press, p. 250, 1992.
- DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematic and Evolution**, Vienna, v. 222, p. 113-132, 2000.
- DAFNI, A.; MAUÉS, M. M. A rapid and simple method to determine stigma receptivity. **Sexual Plant Reproduction**, v. 2, p. 117-180, 1998.
- DOUCET, J.; LEE, H. K.; GORING, D. R. Pollen acceptance or rejection: a tale of two pathways. **Trends in Plant Science**, London, v. 21, p. 1058–1067, 2016.
- DRESSELHAUS, T.; FRANKLIN-TONG, N. Male–Female Crosstalk during Pollen Germination, Tube Growth and Guidance, and Double Fertilization. **Molecular Plant**, Shanghai, v. 6, n. 4, p. 1018–1036, 2013.
- DUTRA, G. A. P.; SOUZA, M. M.; RODRIGUES, R.; SUDE, C. P.; PEREIRA, T. N. S. Viabilidade em grãos de pólen frescos e armazenados em acessos de pimenta. **Horticultura Brasileira**, Dois Irmãos, v. 18, p. 729-230, 2000.
- EDLUND, A. F.; SWANSON, R.; PREUSS, D. Pollen and Stigma Structure and Function: The Role of Diversity in Pollination. **The Plant Cell**, v.16, p.S84–S97, 2004
- EHLER, N.; SCHILL, R. Die Pollenmorphologie der Bromeliaceae. **Pollen et Spores**, Paris, v. 15, p. 13-45, 1973.
- ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy**. Angiosperms. Almqvist and Wiksell Stockholm. 1952.
- ERDTMAN, G. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Bot Tidskr**, v. 54, p. 561-564, 1960.
- ERDTMAN, G.; PRAGLOWSKI, K. A note on pollen morphology. **Flora Neotropica**, New York, v. 14, p. 1, p. 28-33, 1974.
- FERGUSON, I.K.; SKVARLA, J.J. Pollen morphology in relation to pollinators in Papilionoideae (Leguminosae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 84, p. 183-193, 1981.
- FERREIRA, M. S.; SOARES, T. L.; COSTA, E. M. R.; SILVA, R. L.; JESUS, O. N.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, F. V. D. Optimization of culture medium for the in vitro germination and histochemical analysis of *Passiflora* spp. pollen grains. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 15, p. 110298, 2021.

FIRON, N.; NEPI, M.; PACINI, E. Water status and associated processes mark critical stages in pollen development and functioning. **Annals of Botany**, Oxford, v. 109, p. 1201-1213, 2012.

FORZZA, R. C.; COSTA, A. F.; MACIEL, J. R.; KESSOUS, I. M.; MONTEIRO, R. F.; FARIA, A. P.G.; TARDIVO, R. C.; BÜNEKER, H. M.; SARAIVA, D. P.; MOREIRA, B. A.; JACQUES, S. S. A.; ALMEIDA, M. M.; SANTOS-SILVA, F.; LOUZADA, R. B.; MOURA, R. L.; COUTO, D. R.; NEVES, B.; OLIVEIRA, F. M. C.; ARAÚJO, C. C.; GONÇALVES-OLIVEIRA, R. C.; VERSIEUX, L. M.; ROMANINI, R. P.; MACHADO, T. M.; SILVA, R. S. A.; PAIXÃO SOUZA, B.; GOMES-DA-SILVA, J.; URIBBE, F. P.; GUARÇONI, E. A. E.; SOUSA, L. O. F.; PONTES, R. A. S.; NOGUEIRA, M. G. C.; SOUSA, G. M.; KOCH, A. K.; PICANÇO, W. L.; CARDOSO, P. H.; MARTINS, S. E.; BARBOSA-SILVA, R. G.; WANDERLEY, M. G. L. **Bromeliaceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB66>. Acesso em: 12 dez. 2023

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica**: Relatório técnico 2020/2021. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo, 2022.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica**: Relatório técnico 2021/2022. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo, 2023.

FURNESS, C.A.; RUDALL, P.J. Microsporogenesis in Monocotyledons. **Annals of Botany**, Oxford, v. 84, p. 475-499, 1999.

GALEN, C.; PLOWRIGHT, R. C. Testing accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptivity. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 65, n. 1, p. 107-111, 1987.

GOMES, P. R.; RASEIRA, M. C. B.; BAUDET, L. L.; PESKE, S. T. Armazenamento do grão de pólen de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 14-17, 2003.

GONÇALVES-OLIVEIRA, R.C.; MARTINS, S.E.; WANDERLEY, M.G.L. **Hohenbergia in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB6096>. Acesso em: 12 dez. 2023

GOUDA, E.J.; BUTCHER, D.; DIJKGRAAF, L. **Encyclopaedia of Bromeliads, Version 5**. 2023. Disponível em: <http://bromeliad.nl/encyclopedia/> Utrecht University Botanic Gardens. Acesso em: 12 dez. 2023.

HALBRITTER, H. *Aechmea warasii*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016k. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Aechmea\\_warasii/300893](https://www.palдат.org/pub/Aechmea_warasii/300893); Acesso em 03 jan 2024.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia abbreviata*. In: **PalDat** - A palynological database. 2018a. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_abbreviata/303356](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_abbreviata/303356); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia blanchetii*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016c. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_blanchetii/301206](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_blanchetii/301206); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia brachycephala*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016d. Disponível em:

[https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_brachycephala/300404](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_brachycephala/300404); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia capitata*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016b. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_capitata/300306](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_capitata/300306); Acesso em 30 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia catingae*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016e. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_catingae/300330](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_catingae/300330); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia conquistensis*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016f. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_conquistensis/300340](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_conquistensis/300340); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia correia-arauji*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016g. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_correia-arauji/301207](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_correia-arauji/301207); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia distans*. In: **PalDat** - A palynological database. 2018b. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_distans/303332](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_distans/303332); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia jamaicana*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016h. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_jamaicana/300367](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_jamaicana/300367); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia leopoldo-horstii*. In: **PalDat** - A palynological database. 2015. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_leopoldo-horstii/300186](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_leopoldo-horstii/300186); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia proctori*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016i. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_proctori/302085](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_proctori/302085); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia ramageana*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016j. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_ramageana/300349](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_ramageana/300349); Acesso em 31 dez 2023.

HALBRITTER, H. *Hohenbergia stellata*. In: **PalDat** - A palynological database. 2016a. Disponível em: [https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia\\_stellata/301325](https://www.palдат.org/pub/Hohenbergia_stellata/301325); Acesso em 30 dez 2023.

HALBRITTER, H. Morphologie und Systematische Bedeutung des Pollens der Bromeliaceae. **Grana**, Stockholm, v. 31, p. 197-212, 1992.

HALBRITTER, H.; TILL, W. Morfologia polínica do Complexo Nidulariódé. In: PEREIRA, M. V. (ed.). **Bromélias da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro, 1998.

HALBRITTER, H.; ULRICH, S.; GRÍMSSON, F.; WEBER, M.; ZETTER, R.; HESSE, M.; BUCHNER, R.; SVOJTKA, M.; FROSCH-RADIVO, A. **Illustrated pollen terminology**. 2 ed. Vienna: Springer, 2018. 487 p.

HARDER, L. D.; AIZEN, M. A.; RICHARDS, S. A. The population ecology of male gametophytes: the link between pollination and seed production. **Ecology Letters**, Oxford, v. 19, p. 497–509, 2016.



- HELLER, S.; LEME, E.M.C.; SCHULTE, K.; BENKO-ISEPPON, A.M.; ZIZKA, G. Elucidating phylogenetic relationship in the *Aechmea* Alliance: AFLP Analysis of *Portea* and the *Gravisia* Complex (Bromeliaceae, Bromelioideae). **Systematic Botany**, Laramie, v. 40, n. 3, p. 716-725, 2015.
- HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. **Stain technology**, Baltimore, v. 45, n. 3, p. 115-120, 1970.
- HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y.; SHIVANNA, K.R. The evaluation of pollen quality, and a further appraisal of the fluorochromatic (FCR) test procedure. **Theoretical and Applied Genetics**, Germany, v. 67, p. 367–375, 1984.
- HESLOP-HARRISON, Y.; SHIVANNA, K. R. The receptive surface of the angiosperm stigma. **Annals of Botany**, London, v. 41, n. 6, p. 1233-1258, 1977.
- HESSE, M. Pollen wall stratification and pollination. **Plant Systematics and Evolution**, Berlin, v. 222, p. 1-17, 2000.
- HESSE, M.; HALBRITTER, H.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROSCHRADIVO, A.; ULRICH, S. **Pollen terminology**. An illustrated handbook. Wien: Springer, 2009, 259 p.
- HISTER, C. A. L.; TEDESCO, S. B. Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, Maringá, v. 18, n. 1, p. 135-141, 2016.
- IMPE, D.; REITZ, J.; KÖPNICK, C.; ROLLETSCHEK, H.; BÖRNER, A.; SENULA, A.; NAGEL, M. Assessment of pollen viability for wheat. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 10, p. 1588, 2020.
- JANY, E.; NELLES, H.; GORING, D. R. Chapter One - The Molecular and Cellular Regulation of Brassicaceae Self-Incompatibility and Self-Pollen Rejection. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 343, p. 1-35, 2019.
- JIMÉNEZ-ZAMORA, T.; GALICIA, L.; ESPINOSA, D.; RIVERA-GONZÁLEZ, I.; LUNA-VEGA, I. Understanding perspectives of current palynology: using science with practical discourse. **Botanical Sciences**, Ciudad de México, v.101, n.2, p. 341-357, 2023.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, n. 2, p. 137-138A, 1965.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Niwot: University Press of Colorado, 1993, 583 p.
- KHANDURI, V. P. Variation in anthesis and pollen production in plants. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, Dubai, v. 11, n. 6, p. 834-839, 2011.
- KULLOLI, S. K.; RAMASUBBU, R.; SREEKALA, A. K.; PANDURANGAN, A. G. Cytochemical localization of stigma-surface esterase in three species of *Impatiens* (Balsaminaceae) of Western Ghats. **Asian Journal of Experimental Biological Sciences**, Agra, v. 1, n. 1, p. 106-111, 2010.

- LABOURIAU, M. L. S.; VANZOLINI, P. E.; MELHEM, T. S. Variation of Polar Axes and Equatorial Diameters in Pollen Grains of Two Species of Cassia, **Grana**, Oslo, v. 6, n.1, p. 166-176, 1965.
- LEME, E. M. C.; FRAGA, C. N.; KOLLMANN, L. J. C.; BROWN, G. K.; TILL, W.; RIBEIRO, O. B. C.; MACHADO, M. C.; MONTEIRO, F. J. S.; FONTANA, A. P. Miscellaneous new species in the Brazilian Bromeliaceae. **Rodriguesia**, v. 61, n.1, p. 21–67, 2010.
- LEME, E. M. C.; ZIZKA, G.; SOUZA, E. H.; PAULE, J.; CARVALHO, J. D. T.; MARIATH, J. E. A.; HALBRITTER, H.; RIBEIRO, O. B. C. New genera and a new species in the “Cryptanthoid Complex” (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on the morphology of recently discovered species, seed anatomy, and improvements in molecular phylogeny. **Phytotaxa**, Auckland, v. 544, n. 2, p.128-170, 2022.
- LEME, E.M.C. Two New Species of *Hohenbergia* from Bahai, Brazil. **Journal of the Bromeliad Society**, v.53, n.4, p. 169-177, 2003.
- LEME, E.M.C.; HALBRITTER, H.; BARFUSS, M.H.J. *Waltillia*, a new monotypic genus in Tillandsioideae (Bromeliaceae) arises from a rediscovered, allegedly extinct species from Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 299, p. 1-35, 2017a.
- LEME, E.M.C.; HELLER, S.; ZIZKA, G.; HALBRITTER, H. New circumscription of *Cryptanthus* and new *Cryptanthoid* genera and subgenera (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on neglected morphological traits and molecular phylogeny. **Phytotaxa**, Auckland, v. 318, p. 1-88, 2017b.
- LEME, E.M.C.; TILL, W. A new species of *Hohenbergia* from Bahia - a tribute to Roberto Burle Marx. **Bromélia**, Rio de Janeiro, v.3, n.1, p. 28-32, 1996.
- LEME, E.M.C.; ZIZKA, G.; PAULE, J.; AGUIRRE-SANTORO, J.; HELLER, S.; RAMIREZ-MORILLO, I.M.; HALBRITTER, H.; MARIATH, J.E.A.; CARVALHO, J.D.T.; FORZZA, R.C. Re-evaluation of the Amazonian *Hylaeicum* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on neglected morphological traits and molecular evidence. **Phytotaxa**, Auckland, v. 499, p. 1-60, 2021.
- LEVIN, D.A. The origin of reproductive isolating in flowering plants. **Taxon**, Weinheim, v. 20, n. 1, p. 93–104, 1971.
- LÓPEZ, J.; RODRIGUEZ-RIAFIO, T.; ORTEGA-OLIVENCIA, A.; DEVESA, J. A.; RUIZ, T. Pollination mechanisms and pollen-ovule ratios in some *Genisteeae* (Fabaceae) from southwestern Europe. **Plant Systematics and Evolution**, Berlin, v. 216, p. 23-47, 1999.
- LUTHER, H. E.; NORTON, K. F. A Colorful New Species of *Hohenbergia* from Bahia, Brazil. **Vidalia**, Viçosa, v.2, n.2, p. 37-40, 2005.
- MAJEED, S.; AHMAD, M.; ALI, A.; ALTHOBAITI, A. T.; RAMADAN, M. F.; KILIC, O.; DEMIRPOLAT, A.; ÇOBANOĞLU, D. N.; ZAFAR, S.; AFZA, R.; MAKHKAMOV, T.; YULDASHEV, A.; GAFFOROV, Y.; KHAYDAROV, K.; ZAFAR, M.; SULTANA, S. Pollen Micromorphology among Amaranthaceous Species from Desert Rangeland: Exine Stratification and their Taxonomic Significance. **BioMed Research International**, London, v. 2023, p.1-20, 2023.
- MAJEED, S.; ZAFAR, M.; AHMAD, M.; KILIC, O.; SULTANA, S.; RAZA, J.; YASEEN, G.; GUL, H.; MIR, S.; LUBNA.; JABEEN, M. Pollen morphological investigations of family Cactaceae and its taxonomic implication by light microscopy and scanning

electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, New Jersey, v. 83, n. 7, p. 767-777, 2020.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. **Livro vermelho da flora do Brasil**. CNCFLOA. Rio de Janeiro. 2013.

MARTINELLI, G.; VIEIRA, C.; GONZALES, M.; LEITMAN, P.; PIRATININGA, A.; COSTA, A. F. C.; FORZZA, R. C. F. Bromeliaceae da Mata Atlântica Brasileira: Lista de Espécies, Distribuição e Conservação. **Rodriguesia**, v. 59, n.1, p. 209–258, 2008.

MIONE, T.; ANDERSON, G. L. (1992) Pollen-ovule ratios and breeding system evolution in *Solanum* section *Basarthurum* (Solanaceae). **American Journal of Botany** v.79, p. 279-287, 1992.

MOREIRA, B. A.; CRUZ-BARROS, M. A. V.; WANDERLEY, M. G. L. Morfologia polínica de algumas espécies dos gêneros *Neoregelia* L.B. Sm. e *Nidularium* Lem. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 19, p. 61-70, 2005.

MOTA, S. S.; FARO, I. A. M.; CAVALCANTE, B. P. C.; SOUZA, F. V. D.; AONA, L. Y. S.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, E. H. Reproductive systems and hybridization of *Lymania* species (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil threatened with extinction. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 322, p. 1-11, 2023.

MOTA, S. S.; FARO, I. A. M.; SOARES, T. L.; ALMEIDA, P. S.; SOUZA, F. V. D.; AONA, L. Y. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROSSI, M. L.; SOUZA, E. H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 338, p. 1-10, 2024.

NOGUEIRA, F. M.; NATIVIDADE, F. F.; KUHN, S. A.; FREGONEZI, J. N.; MARIATH, J. N. Ovary and ovule anatomy in the nidularioid complex and its taxonomic utility (Bromelioideae: Bromeliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 177, n. 1, p. 66-77, 2015.

PARTON, E.; VERVAEKE, I.; DEROOSE, R.; DE PROFT, M.P. Barreiras de fertilização interespecífica e intergenérica em Bromeliaceae. **Acta Horticulture**, v.552, p. 43-54, 2001.

PARTON, E.; VERVAEKE, R.; DELEN, B. R.; VANDENBUSSCHE, R.; PROFT, M. Viability and storage of bromeliad pollen. **Euphytica**, v. 125, p. 155-161, 2002.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry, theoretical and applied**. 2. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, p. 631, 1972.

PIO, L. A. S.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, F. S.; RUFINI, J. C. M. Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 147-153, 2007.

PUNT, W.; HOEN, P. P.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 143, n. 1-2, p.1-81, 2007.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. 2023.

RASBAND, W. S. **ImageJ**, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 1997-2018. Disponível em: <<http://imagej.nih.gov/ij/>> Acesso em: 13 jul. 2022.

- RATHOD, V.; BEHERA, T. K.; MUNSHI, A. D.; DURGESH, K.; GS JAT, G. S.; KRISHNAN, G. B.; SHARMA, N. Pollen viability and in vitro pollen germination studies in *Momordica* species and their intra and interspecific hybrids. **International Journal of Chemical Studies**, New Delhi, v. 6, n. 6, p. 32-40, 2018.
- RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de preparation des grains de pollen fragiles. **Adansonia**, Paris, v. 2, n. 11, p. 77-79, 1979.
- ROUBIK, D. W.; MORENO, P. J. E. Pollen and spores of Barro Colorado Island. Monograph in Systematic Botany. **Missouri Botanical Garden**, v. 36, p. 1-268, 1991.
- SALGADO-LABOURIAU, M.L. **Contribuição à palinologia dos cerrados**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 219pp, 1971.
- SANTOS, V. L. S.; WANDERLEY, M. G. L.; VERSIEUX, L. M.; LUZ, C. F. P. Pollen morphology of Brazilian species of *Vriesea* (Bromeliaceae, Tillandsioideae), **Grana**, v. 59, n.2, p. 203-225, 2020.
- SANTOS, V. L.; NIEVOLA, C.C.; FIDALGO, A. O.; KANASHIRO, S.; WANDERLEY, M. G. L.; GOMES, E. P. C.; LUZ, C. F. P. Floral morphology and pollen viability of an endangered and endemic Bromeliaceae species from the Atlantic Forest. **Grana**, Oslo, v. 60, n. 5, p. 327-346, 2021.
- SANTOS, V. L.; VERSIEUX, L. M. WANDERLEY, M. G. L.; LUZ, C. F. P. Pollen morphology of *Alcantarea* giant bromeliads (Bromeliaceae, Tillandsioideae). **Grana**, Oslo, v. 57, n. 1-2, p. 117-136, 2018.
- SARWAR, A. K. M. G.; TAKAHASHI, H. Pollen morphology of *Kalmia* (Phyllodoceae, Ericaceae) and its taxonomic significance. **Bangladesh Journal of Plant Taxonomy**. Bangladesh, v. 19, p.123-133, 2012.
- SCHROEDER, G. R.; JUNIOR, N. P. V.; DEC, E.; MOUGA, D. M. D. S. Caracterização palinológica de Bromeliaceae (A. Juss.) de São Francisco do Sul, Santa Catarina. **Acta Biológica Catarinense**, Santa Catarina, v. 6, n. 1, p. 46-57, 2019.
- SEI. **Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. Informações municipais**. Físico-ambientais - mapas estaduais. Available. 2014. Disponível em: [https://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2669&Itemid=710](https://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2669&Itemid=710). Acesso em: 20 jan. 2021.
- SHIVANNA, K. R.; RANGASWAMY, N. S. **Pollen biology: a laboratory manual**; New York: Springer-Verlag, p.119, 1992.
- SILVA, V. J. D.; RIBEIRO, E. M.; LUIZI-PONZO, A. P.; FARIA, A. P. G. Ultrastructure and pollen morphology of Bromeliaceae species from the Atlantic Rainforest in Southeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.88, p. 439-449, 2016.
- SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SOUZA, E. H.; SANTOS-SEREJO, J. A.; OLIVEIRA, E. J. Morphology and viability of pollen grains from passion fruit species (*Passiflora* spp.). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 779-787, 2013.
- SOARES, T. L.; SILVA, S. O.; COSTA, M. A. P. C.; SEREJO, J. A. S.; SOUZA, A.; MORAIS-LINO, L. S.; SOUZA, E. H.; JESUS, O. N. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, n. 8, p. 111-118, 2008.

- SOARES, T. L.; SOUZA, E. H.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, p. 1744-1749, 2011.
- SOARES, T. L.; SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A. Viability of pollen grains of tetraploid banana. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 2, p. 145-151, 2016.
- SOUZA, E. H.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; MARTINELLI, A. P. Stigma structure and receptivity in Bromeliaceae. **Scientia Horticulturae**, Wageningen, v. 203, n. 1, p. 118–125, 2016.
- SOUZA, E. H.; SILVA, T. A.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, F. V. D.; LEME, E. M. C. *Hohenbergia amargosensis* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a new ornamental species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 567, n. 1, p. 086–092, 2022
- SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; LEDO, C. A. S.; MARTINELLI, A. P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic Forest. **Euphytica**, Wageningen, v. 204, p. 13-28, 2015.
- SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; PACKER, R. M.; CRUZ-BARROS, M. A. V.; MARTINELLI, A. P. Pollen morphology and viability in Bromeliaceae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 4, p. 3067-3082, 2017.
- SOUZA, F. C.; MENDONÇA, C. B. F.; GONÇALVES-ESTEVEZ, V. Estudo polínico de espécies de Pitcairnioideae e Tillandsioideae (Bromeliaceae Juss.) ocorrentes na restinga de Carapebus, Estado do Rio de Janeiro. **Arquivos do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v. 62, p.15-23, 2004.
- SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002.
- SOUZA, S. O.; OLIVEIRA, R. S.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, F. V. D.; SOARES, T. L.; ROSSI, M. L. R.; SOUZA, E. H. Pollen morphology and viability of *Tillandsia* (Bromeliaceae) species by light microscopy and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 84, n. 3, p. 441-459, 2020a.
- SOUZA, S. O.; OLIVEIRA, R. S.; SOUZA, F. V. D.; AONA, L. Y. S.; ROSSI, M. L. R.; SOUZA, E. H. Morphoanatomy and stigma receptivity in *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) occurring in Bahia, Brazil. **Nordic Journal of Botany**, West Sussex, v. 38, n. 9, p. 1-10, 2020b.
- SOUZA, S. O.; OLIVEIRA, R. S.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, F. V. D.; SOARES, T. L.; ROSSI, M. L.; SOUZA, E. H. Pollen morphology and viability of *Tillandsia* (Bromeliaceae) species by light microscopy and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 84, n. 3, p. 441-459, 2021.
- STEINHORST, L.; KUDLA, J. Calcium - a central regulator of pollen germination and tube growth. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1833, p. 1573–1581, 2013.

- STONE, J. L.; THOMSON, J. D.; DENT-ACOSTA, S. J. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments: a review. **American Journal of Botany**, New York, v. 82, p. 1186-1197, 1995.
- SZIBOR, R.; SCHUBERT, C.; SCHONING, R.; KRAUSE, D.; WENDT, U. Pollen analysis reveals murder season. **Nature**, London, v.395, p.449–450, 1998.
- TARDIVO, R. C.; RODRIGUES, W. A. Pólen e estigma das espécies de *Nidularium* Leme e *Cansitrum* E. Morren (Bromeliaceae) ocorrentes no Estado do Paraná. **Biotemas**, Florianópolis, v. 11, p. 7-16, 1998.
- TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, p. 461-491, 1997.
- TONNABEL, J.; DAVID, P.; JANICKE, T.; LEHNER, A.; MOLLET, J.-C.; PANNELL, J. R.; DUFAY, M. The scope for postmating sexual selection in plants. **Trends in Ecology and Evolution**, Oxford, v. 36, p. 556–567, 2021.
- TUSHABE, D.; ROSBAKH, S. A Compendium of in vitro Germination Media for Pollen Research. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 12, p. 709945, 2021
- VERVAEKE, I.; PARTON, E.; DEROOSE, R.; DE PROFT, M. P. Flower biology of six cultivares of the Bromeliaceae. I. Pollen, pistil, and petal appendages. **Selbyana**, Sarasota, v. 24, p. 78-86, 2003.
- VONHOF, J. J.; HARDER, L. D. Size-number trade-offs and pollen production by papilionaceous legumes. **American Journal of Botany**, St. Louis, v.82, p. 230-238, 1995.
- WANDERLEY, M. G. L.; MELHEM, T. S. Flora polínica da reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga- Família: 178- Bromeliaceae. **Hoehnea**, São Paulo, v.18, n. 1, p. 5-42, 1991.
- WODEHOUSE, R. P. **Pollen Grains**. McGraw, New Yourk, 1935.
- YAMAGUCHI, M; YAMAZAKI, A; AKUTSU, M. Optimization of Pollen Germination Medium and Pollen Collection in Two Japanese Strawberry Cultivars. **The Horticulture Journal Preview**, Yamaguchi, ID QH-097, 2023
- ZAMBON, C. R.; SILVA, L. F. O.; PIO, R.; FIGUEIREDO, M. A.; SILVA, K. N. Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014.
- ZEISLER, M. Über die Abgrenzung des eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. **Beihefte zum Botanischen Centralblatt**, Jena, v. 58, n. 1, p. 308-318, 1933.
- ZHANG, W.; ZHAO, M.; FAN, J.; ZHOU, T.; CHEN, Y.; CAO, F. Study on relationship between pollen exine ornamentation pattern and germplasm evolution in flowering crabapple. **Scientific Reports**, London, v. 7, p. 39759, 2017.

## CAPÍTULO 2

### FENOLOGIA E REPRODUÇÃO DE *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromelioideae, Bromeliaceae) NA MATA ATLÂNTICA<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Manuscrito a ser ajustado e submetido ao Periódico “Plant Reproduction”.

## FENOLOGIA E REPRODUÇÃO DE *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromelioideae, Bromeliaceae) NA MATA ATLÂNTICA

**RESUMO:** Avaliações da fenologia vegetativa e reprodutiva têm apresentado resultados relevantes relacionados ao modo como os fatores bióticos e abióticos influenciam os ritmos fenológicos das plantas e quais os efeitos das mudanças climáticas no ecossistema. Este trabalho teve como objetivo caracterizar os padrões fenológicos de desenvolvimento vegetativo, floração e frutificação de *H. amargosensis* e *H. stellata* em fragmentos da Mata Atlântica, bem como a relação com os agentes polinizadores e o comportamento reprodutivo de outras cinco espécies de *Hohenbergia* ocorrentes na Mata Atlântica e pertencentes ao mesmo complexo de espécies. Para isso, foram realizadas visitas periódicas nos fragmentos florestais de ocorrência de *H. amargosensis* e *H. stellata* com observação do desenvolvimento das plantas em cada estágio (ramo lateral, planta jovem, planta adulta, floração, frutificação e senescência) a fim de obter um panorama do seu crescimento e desenvolvimento. Houve também o registro dos visitantes florais e coleta de néctar em intervalos de três horas, durante o dia, para correlacionar com os agentes polinizadores e sua interação com as espécies em estudo. Além disso, foi avaliada a relação pólen/óvulo, assim como os diferentes métodos para avaliar os sistemas de reprodução (agamospermia, autopolinização espontânea, autopolinização manual, geitonogamia, polinização cruzada e polinização natural) em *H. amargosensis*, *H. belemii*, *H. capitata*, *H. ituberaensis*, *H. nidularioides*, *H. rosea* e *H. stellata*. Os pistilos foram submetidos à microscopia de fluorescência com filtro ultravioleta para identificar os sistemas reprodutivos e avaliar as possíveis barreiras reprodutivas, observando a germinação dos grãos de pólen e crescimento do tubo polínico no pistilo. *Hohenbergia amargosensis* e *H. stellata* possuem ciclo de fenofase vegetativa com duração de dois anos, sendo que *H. amargosensis* possui floração supra-anual, a cada dois anos, e *H. stellata* anual. Ambas as espécies se reproduzem de forma assexuada e sexuada, possuem sazonalidade em suas fenofases, com exceção da emissão de novas folhas em *H. stellata* e apresentam alta correlação das fenofases com a temperatura e precipitação, exceto a brotação de *H. amargosensis* com a temperatura. *Hohenbergia capitata* e *H. nidularioides* são espécies parcialmente autocompatíveis, as demais apresentaram autoincompatibilidade, sendo que todas reproduzem-se por polinização cruzada, com maior número de produção de sementes na polinização natural. Apomixa não foi observada em nenhuma espécie. As principais barreiras reprodutivas identificadas foram a falta de deposição de grãos de pólen na superfície do estigma; interrupção da germinação dos grãos de pólen no primeiro e segundo terço do estilete; enovelamento dos tubos polínicos no segundo terço do estilete; e deposição irregular de calose no tubo polínico. A antese floral das sete espécies acontece das 5h40 às 6h, com maior liberação de grãos de pólen, néctar e concentração de açúcar a partir desse horário, seguindo um declínio durante o período de abertura. Foram registrados em *H. amargosensis* oito espécies de polinizadores, um de visitante e um pilhador e em *H. stellata*, quatro espécies de polinizadores e um visitante. Foi observado que os principais agentes polinizadores são os beija-flores (Trochilidae) e as abelhas (Apidae). Os dados aqui obtidos em relação a fenologia e aspectos reprodutivos de espécies de *Hohenbergia* são importantes fontes para subsidiar estudos de melhoramento e conservação das espécies.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bromélia; Biologia floral e reprodutiva; Conservação; Fecundação; Polinização; Visitantes florais.



**PHENOLOGY AND REPRODUCTION OF *Hohenbergia* Schult. & Schult.f.  
(Bromelioideae, Bromeliaceae) FROM THE ATLANTIC FOREST**

**ABSTRACT:** Assessments of vegetative and reproductive phenology have presented very efficient results related to how biotic factors influence the phenological rhythms of plants and the effects of climate change on the ecosystem. Phenology and floral biology studies are ideal for supporting future preservation plans and management of species of interest. This work aimed to characterize the phenological patterns of vegetative development, flowering and fruiting of *H. amargosensis* and *H. stellata* in fragments of the Atlantic Forest, as well as the relationship with pollinating agents and the reproductive behavior of five other species of *Hohenbergia* occurring in the Atlantic Forest and belonging to the same species complex. To this end, periodic visits were carried out in forest fragments where *H. amargosensis* and *H. stellata* occurred, observing the development of plants at each stage (sprout, young plant, adult plant, flowering, fruiting and senescence) in order to obtain an overview of its growth and development. Floral visitors were also recorded and nectar collected at three-hour intervals, during the day, to correlate with pollinating agents and their interaction with the species under study. Furthermore, the pollen/ovule relationship was evaluated, as well as the different reproduction systems (agamospermy, natural self-pollination, manual self-pollination, geitonogamy, xenogamy and free pollination) in *H. amargosensis*, *H. belemii*, *H. capitata*, *H. ituberaensis*, *H. nidularioides*, *H. rosea* and *H. stellata*. The results were subjected to fluorescence microscopy with an ultraviolet filter to identify the reproductive systems and evaluate possible reproductive barriers, observing the germination of pollen grains and growth of the pollen tube in the pistil. *Hohenbergia amargosensis* and *H. stellata* have a vegetative phenophase cycle lasting two years, with *H. amargosensis* having supra-annual flowering, every two years, and *H. stellata* annual. Both species reproduce asexually and sexually, have seasonality in their phenophases, with the exception of the emission of new leaves in *H. stellata*, and have a high correlation of phenophases with temperature and precipitation, except for the budding of *H. amargosensis* with the temperature. *Hohenbergia capitata* and *H. nidularioides* are partially self-compatible species, the others presented self-incompatibility, and all reproduce by xenogamy, with a greater number of seed production in free pollination. Agamospermy has not been observed in any species. The main reproductive barriers identified were: lack of deposition of pollen grains on the stigma surface; inhibition of pollen grain germination in the first and second third of the style; coiling of pollen tubes in the second third of the style; and reticulate deposition of callose in the pollen tube. Floral anthesis of the seven species occurs from 5:40 am to 6:00 am, with a greater release of pollen grains, nectar and sugar concentration from this time onwards, following a decline during the opening period. Eight species of pollinators, one visitor and one plunderer were recorded in *H. amargosensis* and four species of pollinators and one visitor in *H. stellata*. The main pollinators are hummingbirds belonging to the Trochilidae family and Apidae bees. The data obtained from this study regarding the phenology and reproductive aspects of *Hohenbergia* species are important sources to support studies on the breeding and conservation of the species.

**KEYWORDS:** Bromeliad; Floral and reproductive biology; Conservation; Fertilization; Pollination; Floral visitors.

## INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica, um dos centros de diversidade e endemismo da família Bromeliaceae (ZIZKA et al., 2019), tem registrado elevados percentuais de alerta de supressão da vegetação nativa (RAD, 2023). Segundo o Relatório Anual de Desmatamento 2022 (RAD, 2023), onde no ano de 2021 houve um aumento de mais de 84% desses alertas no bioma Mata Atlântica e em 2022, verificou-se 104% de ampliação nos alertas de desmatamento em relação ao ano anterior. Devido a isso, Bromeliaceae é uma das famílias de Angiospermas mais ameaçadas de extinção, com mais de 247 espécies ameaçadas, sendo que destas, 40 encontram-se como 'Vulneráveis', 142 'Em Perigo' e 65 'Criticamente em Perigo' (BRASIL, 2022).

Estudos de fenologia e biologia floral e reprodutiva caracterizam a dinâmica das comunidades vegetais, sua relação com variáveis ambientais, a organização temporal dos recursos dentro das populações e as interações ecológicas entre plantas e animais, de modo a levantar dados que subsidie futuros planos de preservação e manejos de espécies de interesse, principalmente quando se encontram em um ecossistema ameaçado (TALORA; MORELLATO, 2000; PEREIRA; QUIRINO, 2008; KEBEDE; ISOTALO, 2016; FREITAS et al., 2017).

Avaliações da fenologia tem apresentado resultados que caracterizam os efeitos das mudanças climáticas no ecossistema (PIAO et al., 2019), já que apresentam dados de eventos recorrentes durante o ciclo de vida das plantas, concomitante as causas relacionadas a fatores bióticos e abióticos (LIETH, 1974). Além disso, é possível levantar informações de produtividade do ecossistema (RICHARDSON et al., 2010; CHANG et al., 2013) e processos ecológicos como competição e herbivoria (EKHOLM et al., 2019; HOOD et al., 2019).

Estudos com espécies vegetais na Mata Atlântica têm analisado se os padrões fenológicos são influenciados pelo regime de chuvas, temperatura, fotoperíodo e fatores globais como o *El Niño* Oscilação Sul (PUGAS et al., 2018; ALBUQUERQUE et al., 2022; LIMA et al., 2022; GRAEFF et al., 2023; MENEZES et al., 2024). Além disso, sugerem que os fatores bióticos também influenciam os ritmos fenológicos das plantas, relacionando-os à polinização e dispersão de sementes, sendo de grande impacto para a reprodução vegetal (GENTRY, 1974; OLIVEIRA et al., 2021; ALBUQUERQUE et al., 2022).

Bromeliaceae são importantes fontes de recursos alimentares para grande variedade de organismos (SAZIMA et al., 1989; NARA; WEBER, 2002). Na maioria das espécies de bromélias ocorre a ornitofilia, em outras entomofilia ou quiropterofilia, sendo os insetos vistos em muitas espécies atuando como visitantes (SAZIMA et al., 1989; BENZING, 2000; RIOS et al., 2010).

Devido à correlação morfológica entre comprimento e curvatura de flores e do bico do pássaro, trabalhos sugerem uma coevolução entre bromélias e beija-flores (SICK, 1984; CAPUCHO et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2018; ZAMBON et al., 2019). Fatores como morfologia floral, abordagem do visitante e o tempo gasto por ele nesta abordagem, são decisivos para a ocorrência ou não da polinização e consequentemente produção de sementes (WASER; PRICE, 1983).

A polinização é um mecanismo de grande importância, pois viabiliza a manutenção da variabilidade genética dos vegetais, além de ser responsável pela existência de outros organismos que dependem dos recursos produzidos (POTTS et al., 2006; KREMEN et al., 2007). Segundo Göttinger et al. (2019), para a família Bromeliaceae, as características do néctar são mais determinantes para o tipo de polinizador do que os grupos taxonômicos ou relações filogenéticas.

Além do mais, o néctar produzido pode ter relação direta com a disponibilidade dos grãos de pólen, sendo em alguns casos, inclusive em Bromeliaceae, liberado em quantidade fracionada durante a antese de acordo com a frequência dos visitantes florais de interesse (ZAMBON et al., 2019), sugerindo, que a alocação gradual de néctar tende a otimizar a reprodução por garantir a presença de polinizadores em diferentes momentos.

Para que a reprodução sexuada seja bem-sucedida deve ser observado o tipo de sistema reprodutivo que favorece a espécie em estudo. Em Bromeliaceae, podem ser encontradas plantas autógamias, alógamas, cleistógamas ou com sistemas mistos (MATALLANA et al., 2010; SOUZA et al., 2017; MOTA et al., 2024), sendo a autocompatibilidade encontrada em muitas espécies (SIQUEIRA-FILHO; MACHADO, 2001; MATALLANA et al., 2010; SOUZA et al., 2017; MOTA et al., 2023). Existem ainda aquelas que apenas possuem sucesso reprodutivo por meio da fecundação cruzada devido as barreiras reprodutivas como a incompatibilidade genética (gametofítica e esporofítica) (SOUZA et al., 2017; MOTA et al., 2023), dicogamia, heterostilia (BENZING, 2000), protoginia (GARDNER, 1986) e protandria (MARTINELLI, 1997).

Das espécies de *Hohenbergia* contempladas neste estudo, até o momento, só foram descritos na literatura o período de floração e frutificação para as espécies *H. amargosensis* E.H. Souza & Leme (SOUZA et al., 2022), *H. capitata* Schult. & Schult.f., *H. belemii* L.B.Sm. & Read, *H. nidularioides* B.P.Cavalcante, E.H.Souza, A.P.Martinelli & Versieux (CAVALCANTE et al., 2021a) e *H. ituberaensis* B.P.Cavalcante, E.H.Souza & Versieux (CAVALCANTE et al., 2020a). Vale destacar que essas observações foram apresentadas de forma sucinta juntamente com a descrição das novas espécies. Também não foram encontradas investigações acerca do tipo de reprodução, produção de néctar e visitantes florais para nenhuma das sete espécies aqui tratadas. Além disso, algumas dessas espécies foram avaliadas quanto ao grau de ameaça nos próprios manuscritos, com base nos critérios da lista vermelha de espécies ameaçadas da International Union for Conservation of Nature - IUCN (2020), sendo elas, *H. ituberaensis* 'Vulnerável' (CAVALCANTE et al., 2020a); *H. amargosensis* e *H. nidularioides* 'Criticamente em Perigo' (CAVALCANTE et al., 2021a; SOUZA et al., 2022).

Diante do exposto, este estudo teve por objetivo caracterizar os padrões fenológicos de desenvolvimento vegetativo, floração e frutificação de *H. amargosensis* e *H. stellata* em fragmentos da Mata Atlântica, bem como a relação com os agentes polinizadores e o comportamento reprodutivo de outras cinco espécies de *Hohenbergia* ocorrentes na Mata Atlântica e pertencentes ao mesmo complexo de espécies.

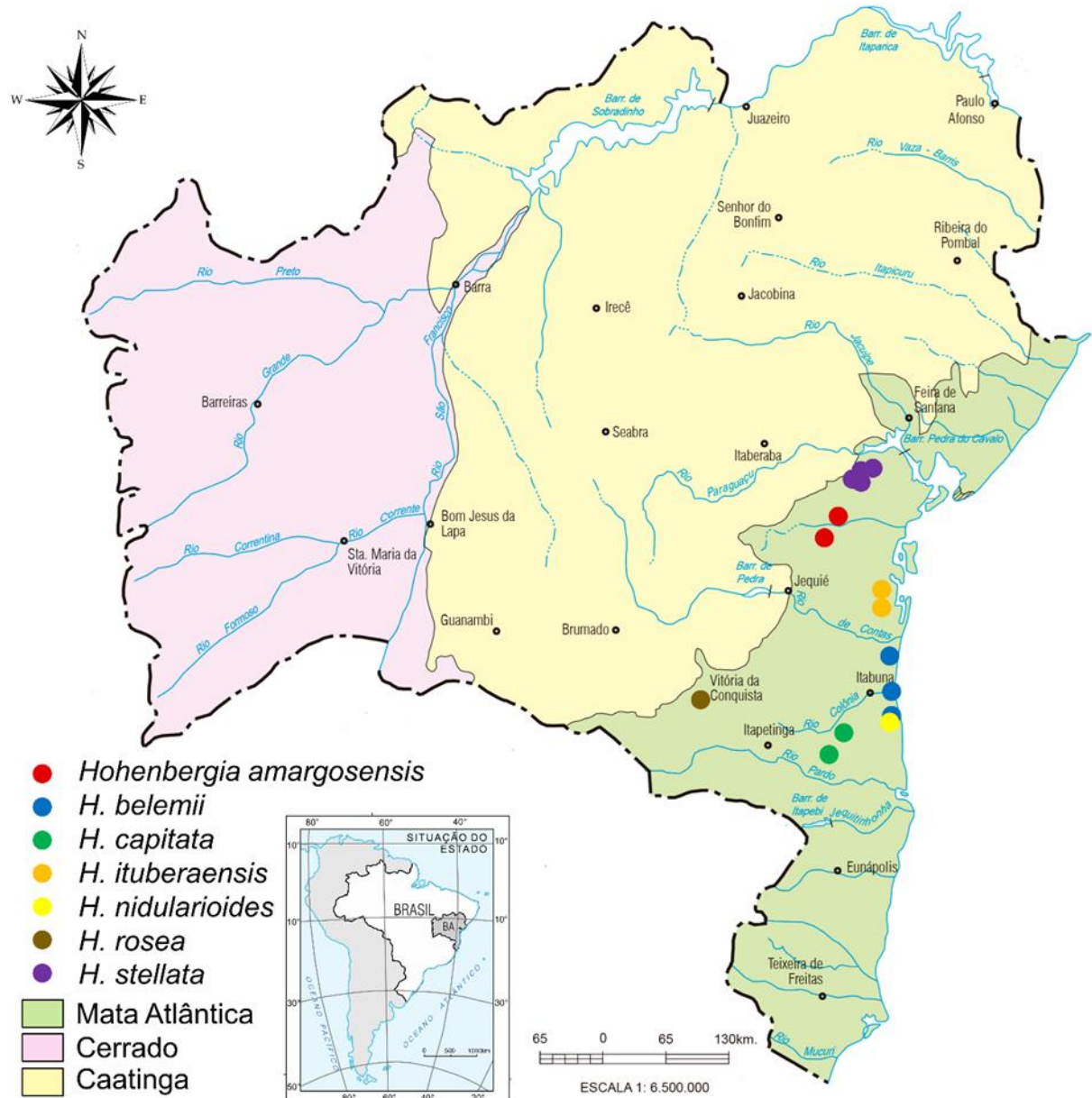
## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material vegetal e área de estudo**

Foram avaliadas sete espécies de *Hohenbergia*, com escolha motivada por ocorrerem no domínio Mata Atlântica do estado da Bahia, Brasil, sendo três ameaçadas de extinção. O estudo ocorreu tanto *in situ* nos municípios de Arataca, Cruz das Almas, Igrapiúna, Ilhéus, Ituberá, Ubaíra, Una e Vitória da Conquista, quanto *ex situ* com amostras vivas coletadas em populações naturais e depositadas no Banco de Germoplasma de Bromélias (BGB Bromélia) do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPG-RGV) da Embrapa Mandioca e Fruticultura e

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no município de Cruz das Almas, Bahia (Figura 1 e Tabela 1).

As coletas foram realizadas conforme autorização do SISBIO n. 69870-1 e as atividades estão devidamente cadastradas no SISGEN, sob a autorização A9E9F8D. O voucher de cada espécie foi incorporado no Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) (Tabela 1).



**Figura 1.** Mapa da Bahia com os respectivos pontos de estudo e coleta das espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) utilizadas nos experimentos de fenologia e biologia reprodutiva. Fonte: Adaptado de Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia (SEI 2014).

A análise da fenologia e registro dos visitantes florais ocorreu no período de março de 2022 a outubro de 2023, com *H. amargosensis* em populações encontradas no fragmento florestal de aproximadamente 19 ha, no povoado de Pindobas, Ubaíra, Bahia, Brasil e *H. stellata* no fragmento florestal de aproximadamente 5 ha, na Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

**Tabela 1.** Espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil, incluindo o município de coleta e voucher do Herbário do Recôncavo da Bahia-HURB.

Espécie	Município de coleta	HURB (voucher)
<i>Hohenbergia amargosensis</i> E.H.Souza & Leme	Ubaíra	25001
	Amargosa	26116
	Ilhéus	18857
<i>Hohenbergia belemii</i> L.B.Sm. & Read.	Una	18863
	Uruçuca	25320
	Camacan	25319
<i>Hohenbergia capitata</i> Schult. & Schult.f.	Arataca	26109
	Ituberá	30428
<i>Hohenbergia ituberaensis</i> B.P.Cavalcante, E.H.Souza & Versieux	Igapiúna	30438
	Una	18862
<i>Hohenbergia rosea</i> L.B.Sm. & Read.	Vitória da Conquista	25316
	Cruz das Almas	13598
	Brejões	17895
<i>Hohenbergia stellata</i> Schult. & Schult.f.	Santa Teresinha	22188
	Amargosa	25324
	Igapiúna	31974

Os sistemas de reprodução e análise do néctar foram realizados nos municípios de coleta das plantas, em diferentes exemplares (n = 6) das sete espécies indicadas na tabela 1. As plantas foram coletadas, plantadas em vasos (8 litros) com substrato comercial Vivato® e casca de Pinus no BGB Bromélia até a formação dos frutos.

Para todas as metodologias em campo a amostragem foi a partir de caminhadas na diagonal dentro das áreas. Os exemplares foram escolhidos com distanciamento mínimo de 2,5 metros quadrado entre eles, georreferenciados e identificados com números sequenciais com placas de alumínio.

## Fenologia

Para estudos fenológicos foram marcados e acompanhados quinzenalmente 25 exemplares das espécies *H. amargosensis* e *H. stellata* de março/2022 a outubro/2023. Adicionalmente, foram coletados dados de presença/ ausência da floração nos anos de 2019 a 2023. Os dados climáticos (precipitação, temperatura e umidade) para os 18 meses de acompanhamento mensal foram obtidos do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET. O fotoperíodo foi calculado utilizando o pacote “*geosphere*”, empregando a função “*daylength*” do software R Core Team 4.2.3 (HIJMANS et al., 2019; R CORE TEAM, 2023).

As estações reprodutivas e o padrão fenológico foram classificados com base em Tovar (1976) e Newstrom, Frankie e Baker (1994) com adaptações. Além disso, para esse estudo, considerou-se os seguintes conceitos: Ramo (gema lateral que dá origem a uma nova planta, do início do seu desenvolvimento a fase anterior ao surgimento das primeiras folhas); Planta jovem [período que se estende do surgimento das primeiras folhas a fase anterior ao período reprodutivo (surgimento de ramos

laterais ou inflorescência)]; Planta adulta [fase que se inicia com o período reprodutivo, entendido por surgimento de ramos laterais ou inflorescência.

A avaliação dos espécimes levou em consideração as diferentes fases da planta. Durante seleção da amostragem de *H. amargosensis* a população foi encontrada contendo plantas jovens e plantas em senescência, sendo selecionados apenas os indivíduos no estágio planta jovem. Já em *H. stellata*, foram encontrados exemplares adultos com ramos laterais, o que motivou a seleção da amostragem ocorrer com 13 plantas adultas e 12 ramos de outras plantas.

Houve quantificação do número de ramos laterais, novas folhas, comprimento e largura das folhas, quinzenalmente em cada planta selecionada. Diariamente, foi acompanhada em campo a inflorescência de dez plantas, selecionadas de modo casual dentro da amostragem, das quais foram anotados o número de botões florais, flores em antese, frutos imaturos e maduros.

Foram calculados Índice de Sincronia do Indivíduo com seu coespecífico e Índice de Sincronia da População, seguindo Augspurger (1983). Os valores variaram entre zero (0) e um (1), sendo que zero representa indivíduos cuja fenofase não apresenta sincronia dentro da população e um quando a sincronia é máxima (BERNINI, 2015).

Observou-se o índice de atividade, baseada na presença (1) ou ausência (0) da fenofase no indivíduo, indicando a porcentagem de exemplares que apresentavam determinado evento fenológico, independente da sua intensidade (BENCKE; MORELLATO, 2002).

Em cada espécie, a fim de verificar a sazonalidade e a duração de cada fenofase (MORELLATO; ALBERTI; HUDSON, 2010), foram realizadas análises estatísticas circulares, utilizando o pacote “*circular*” no software R Core Team 4.2.3 (2023). Neste procedimento, os meses foram convertidos em ângulos com intervalos de 30° para cada observação (0° = janeiro até 330° = dezembro), totalizando três ciclos com 12 intervalos anuais de 30° cada. A frequência das amostras foi computada dentro de cada ângulo e em seguida calculados os parâmetros: ângulo médio (posteriormente convertido em data prevista), comprimento do vetor  $r$ , desvio padrão circular e intervalos de confiança. Em seguida, foi executado o teste de Rayleigh ( $z$ ), que determina a significância do ângulo médio (ZAR, 2010), testando se há sazonalidade nas fenofases. O comprimento do vetor médio varia de zero (0) a um (1), quando zero os dados são igualmente distribuídos no círculo e quando um são concentrados em um único ângulo. Sendo assim, quanto maior a concentração de dados em um ângulo, maior a sazonalidade. Caso o valor  $p$  for significativo, os dados não seguem uma distribuição homogênea, indicando sazonalidade dos eventos (MORELLATO et al., 2000; MORELLATO; ALBERTI; HUDSON, 2010). Para esta análise tomou-se por base o ano que houve maior florescimento do grupo amostral.

As diferenças nas variações das características vegetativas em função da média mensal de precipitação, temperatura e fotoperíodo foram avaliadas por Modelos Lineares Generalizados (GLMs) com distribuição de Poisson para amostras com inflação de zeros, com o pacote “*pascal*” no software R Core Team 4.2.3 (NELDER; WEDDURN, 1972; ZEILEIS; KLEIBER; JACKMAN, 2008; JACKMAN, 2020; R Core Team, 2023). Para aplicar esta análise observou-se a normalidade dos dados por meio do teste de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965) e avaliou-se a distribuição gráfica dos resíduos.

O gráfico circular da distribuição de cada fenofase foi construído utilizando os pacotes “*ggplot2*”, “*RColorBrewer*”, “*extrafont*” e “*ggsci*” do software R Core Team 4.2.3 (2023).

## Sistemas reprodutivos

Para determinar os sistemas reprodutivos das espécies foram realizadas polinizações controladas e acompanhadas as polinizações naturais seguindo a metodologia de Kearns e Inouye (1993). Em campo, selecionou-se cinco à 20 plantas de cada espécie, a depender da disponibilidade. Foram testadas: I) Agamospermia (flores emasculadas e protegidas); II) Autopolinização espontânea (protegidas sem manipulação); III) Autopolinização manual (flores polinizadas com grãos de pólen da mesma flor); IV) Geitonogamia (flores polinizadas com grãos de pólen de outras flores da mesma planta) e V) Polinização cruzada (flores polinizadas com grãos de pólen de outra planta da mesma espécie); além do controle com a VI) Polinização natural (flores apenas selecionadas e identificados). Com exceção da polinização natural, em todos os testes de mecanismos de reprodução, as flores foram isoladas com saco de “voil” ainda em estágio de botão.

Todas as polinizações foram realizadas nos primeiros momentos da antese floral entre 5h40 a 6h da manhã, buscando sempre as mesmas condições. Para cada tratamento, as flores foram marcadas com etiquetas contendo as informações das polinizações. O número de repetições em cada sistema reprodutivo para formação de frutos e contagem de sementes variou de 15 a 30 flores, para cada sistema reprodutivo, a depender da disponibilidade.

Ao final, foram calculados os Índices de Autogamia (IA = autopolinização espontânea/ polinização cruzada) e Autoincompatibilidade (IAI = autopolinização manual/ polinização cruzada) seguindo Ramirez et al. (1990). O Índice de Autoincompatibilidade é determinado como autoincompatível (AI) quando o IAI é inferior a 0,30, e autocompatível ou parcialmente autocompatível (AC) quando IAI é acima de 0,30 (RAMIREZ et al., 1990; AGUILAR-RODRÍGUEZ et al., 2019).

A eficiência reprodutiva (ER) foi determinada por porcentagem de frutos com sementes decorrentes de polinização natural / porcentagem de frutos com sementes decorrentes da polinização cruzada (ZAPATA; ARROYO, 1978). O índice mais próximo de 1 evidencia alta eficiência reprodutiva, mais próxima de 0 baixa eficiência reprodutiva.

## Desenvolvimento do tubo polínico no pistilo

Para análise do desenvolvimento do tubo polínico no pistilo dos diferentes tipos de fecundação foram coletados, por espécie, cinco a dez pistilos (a depender da disponibilidade) de cada sistema reprodutivo. Vinte e quatro horas após as polinizações, os pistilos foram fixados em solução Carnoy [três partes de etanol (95 %), para uma parte de ácido acético glacial PA], por 48 horas, em seguida clarificados em solução de sulfito de sódio (10 %) e autoclavados por 20 minutos, a 120 °C, a fim de clarificar e amolecer os tecidos.

Os pistilos foram corados com solução de azul de anilina (0,01 %) em tampão de fosfato de potássio tribásico ( $K_3PO_4$ ), por 24h. Em seguida, cada pistilo foi depositado em uma lâmina histológica, recobertos com lamínula e esmagados com o polegar. Para verificação da germinação dos grãos de pólen no estigma e o desenvolvimento dos tubos polínicos ao longo do pistilo foi utilizado a microscopia de fluorescência com filtro ultravioleta (MARTIN, 1959; SOUZA et al., 2017). As lâminas foram analisadas em fotomicroscópio Olympus BX51 acoplado com câmera digital Olympus DP175 (Olympus, Tokyo, Japão).

Foram avaliadas quatro variáveis relacionadas à germinação dos grãos de pólen e o crescimento dos tubos polínicos no pistilo: *i*) grãos de pólen aderidos à superfície do estigma (GPSE); *ii*) grãos de pólen germinados na superfície do estigma (GPGE); *iii*) crescimento do tubo polínico no pistilo (CTPP); e *iv*) óvulos com tubo polínico penetrado em sua micrópila (OTPM) (MOTA et al., 2023).

Para grãos de pólen aderidos na superfície do estigma e para grãos de pólen germinados na superfície do estigma utilizou-se a seguinte escala: 0) ausente; 1) 1 a 25 grãos de pólen; 2) 25 a 50 grãos de pólen; 3) > 50 grãos de pólen. Os óvulos fertilizados foram avaliados de conforme a escala: 0) ausente; 1) 1 a 5 óvulos; 2) 5 a 10 óvulos; 3) > 10 óvulos (MOTA et al., 2023).

O crescimento do tubo polínico no pistilo (CTPP) foi avaliado segundo Souza et al. (2017): 0) grãos de pólen não germinados na superfície do estigma; 1) grãos de pólen germinados na superfície do estigma; 2) tubos polínicos paralisados no primeiro terço do estilete; 3) tubos polínicos paralisados no segundo terço do estilete; 4) tubos polínicos paralisados no terceiro terço do estilete; 5) tubos polínicos na região do ovário; 6) tubo polínico próximo ao óvulo; 7) tubo polínico penetrando na micrópila.

### **Razão Grãos de Pólen/ Óvulo (P/O)**

A razão pólen/óvulo foi calculada dividindo a média de grãos de pólen pela média de óvulos de cada espécie. O resultado seguiu a classificação de Cruden (1977) que infere o modo de reprodução preferencial das plantas de acordo com a proporção de polens e óvulos produzidos pelas flores: cleistogamia (P/O = 2,7 – 5,4), autogamia obrigatória (P/O = 18,1 – 39,0), autogamia facultativa (P/O = 31,9 – 396,0), polinização cruzada facultativa (P/O = 244,7 – 2.588,0), polinização cruzada obrigatória (P/O = 2.108,0 – 195.525,0).

### **Visitantes florais**

Foram realizadas observações de campo e coletas dos visitantes florais em *Hohenbergia amargosensis*, nos meses de março a maio de 2023 e *H. stellata*, nos meses de outubro de 2022 a janeiro de 2023. Durante dez dias espaçados houve visita aos locais de ocorrência das espécies vegetais das 5h30 às 17h30, totalizando 120 horas de observação diurna, já que as flores apenas permanecem abertas durante o dia, para cada espécie.

Foram registrados o comportamento dos visitantes/ polinizadores, frequência relativa das espécies na flor, horário e duração das visitas. Para identificação das espécies, estes foram fotografados com câmera digital Canon EOS T7, lente 18-55mm, os insetos foram coletados com auxílio de rede entomológica e, posteriormente, enviados para identificação por especialista da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Foram considerados visitantes florais os indivíduos que coletaram algum tipo de recurso floral (grãos de pólen ou/e néctar) nas flores e polinizadores aqueles que durante a visita liberaram grãos de pólen na superfície do estigma da flor (ALVES-DOS-SANTOS et al., 2016). A captura dos insetos ocorreu sempre no segundo dia de sua visita a planta, sendo que o primeiro e a partir do terceiro foram destinados apenas a observação e registro do seu comportamento.

A constância das espécies foi obtida por meio da fórmula adaptada de Thomazini e Thomazini (2002)  $C = (n^{\circ} \text{ de dias em que o visitante foi observado} / n^{\circ})$



total de dias de observação) x 100. O resultado seguiu a seguinte classificação: constante ( $C > 50\%$ ), acessória ( $25\% \geq C \leq 50\%$ ) e acidental ( $C < 25\%$ ).

A realização dos experimentos para verificar a eficiência dos visitantes florais como polinizador ocorreu no segundo dia de sua visita. Cinco inflorescências foram isoladas com saco de “voil” 12h antes das atividades. No dia seguinte, as flores foram expostas sempre que o visitante de interesse se aproximava e após a visita, novamente cobertas. Foram marcadas as flores visitadas ( $n=10$ ) exclusivamente por cada visitante registrado, a fim de observar a formação dos frutos e posterior contagem do número de sementes.

## Néctar

Para coleta do néctar, foi introduzido a microsseringa (Hamilton 50  $\mu\text{L}$ ) na corola da flor em direção a base das pétalas, onde pode ser encontrado o néctar produzido nos septos do ovário e medido o volume obtido. Em seguida, depositou-se o néctar em refratômetro digital e mediu o índice de refração, convertendo-o a concentração de açúcar, conforme Bolten et al. (1979) e Wolf, Brown e Prentiss (1979) utilizando a seguinte equação:  $y = 0.00226 + (0.00937 x) + (0.0000585 x^2)$ , onde “x” é o valor da concentração (leitura do refratômetro) e “y” são os mg de açúcar por  $\mu\text{L}$ . Foi calculado a quantidade de açúcares totais por flor, multiplicando a quantidade de açúcar/ $\mu\text{L}$  pelo volume de néctar encontrado na flor (DAFNI, 1992).

As coletas de néctar ocorreram em dez flores de plantas diferentes e protegidas com saco de “voil” ainda em estágio de botão, nos seguintes intervalos de tempo: 17 às 18h (pré-antese), 6 às 7 h, 9 às 10h, 12 às 13 h e 15 às 16h (abertura) e 6 às 7h do dia seguinte (pós-antese), em dias alternados.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e composto por 10 flores de diferentes indivíduos. Os coeficientes de correlação linear de Pearson foram calculados para as características e sua significância foi medida pelo teste t de *student* a 1% de probabilidade, utilizando o software R Core Team 4.2.3 (2023).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

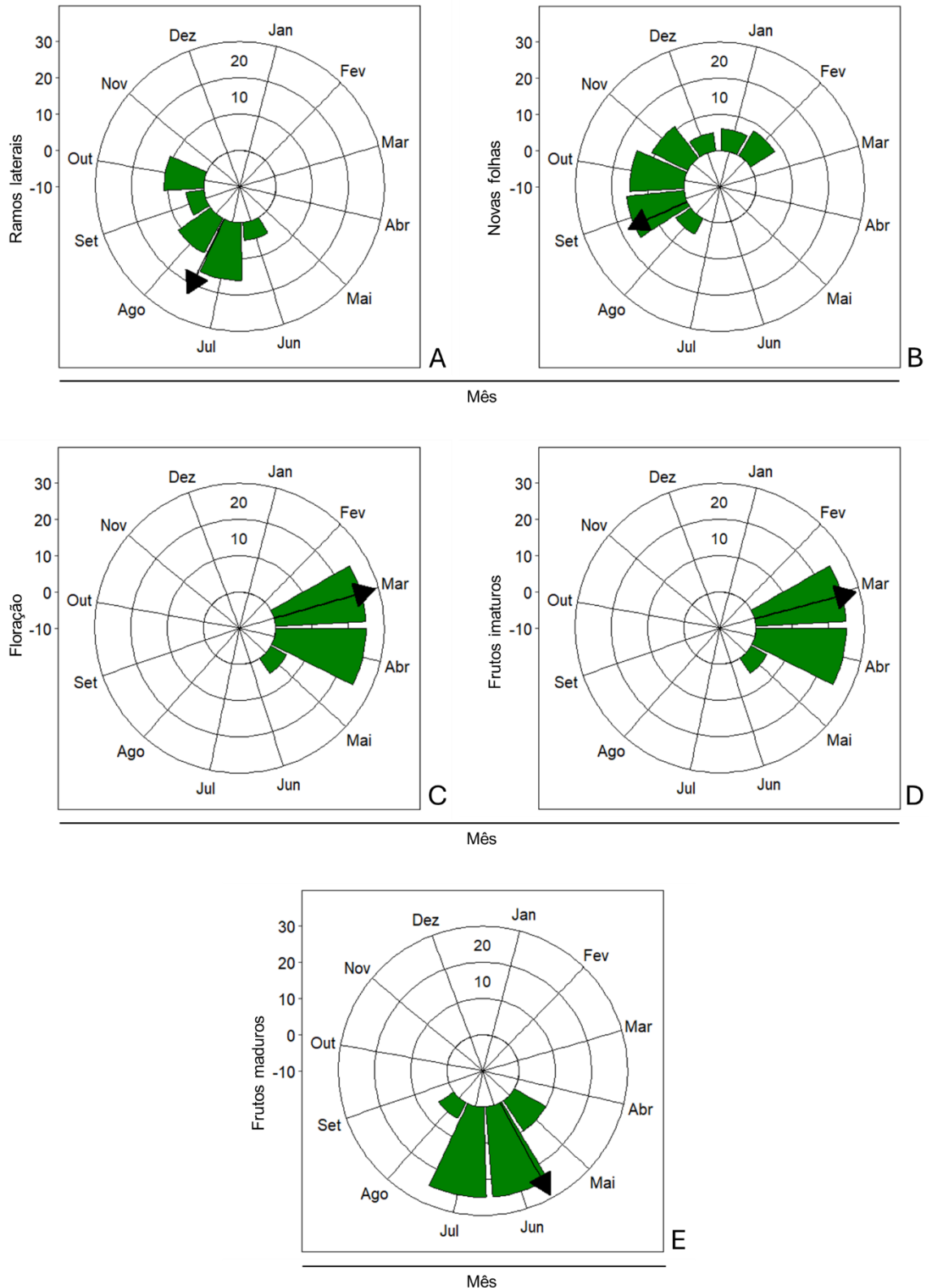
### Fenologia

As duas espécies de *Hohenbergia* possuem comportamentos distintos quanto ao padrão fenológico (Figuras 2-6). A partir dos dados obtidos, foi possível afirmar que *Hohenbergia amargosensis* possui floração supra-anual, a cada dois anos e *H. stellata* floração anual, conforme a classificação de Newstrom, Frankie e Baker (1994). Vale destacar que as duas espécies estão sendo monitoradas desde 2019 e seguem o mesmo padrão de florescimento. *Hohenbergia amargosensis* floresceu apenas nos anos de 2019, 2021 e 2023, fato inédito dentro do gênero. Já *H. stellata* floresceu todos os anos.

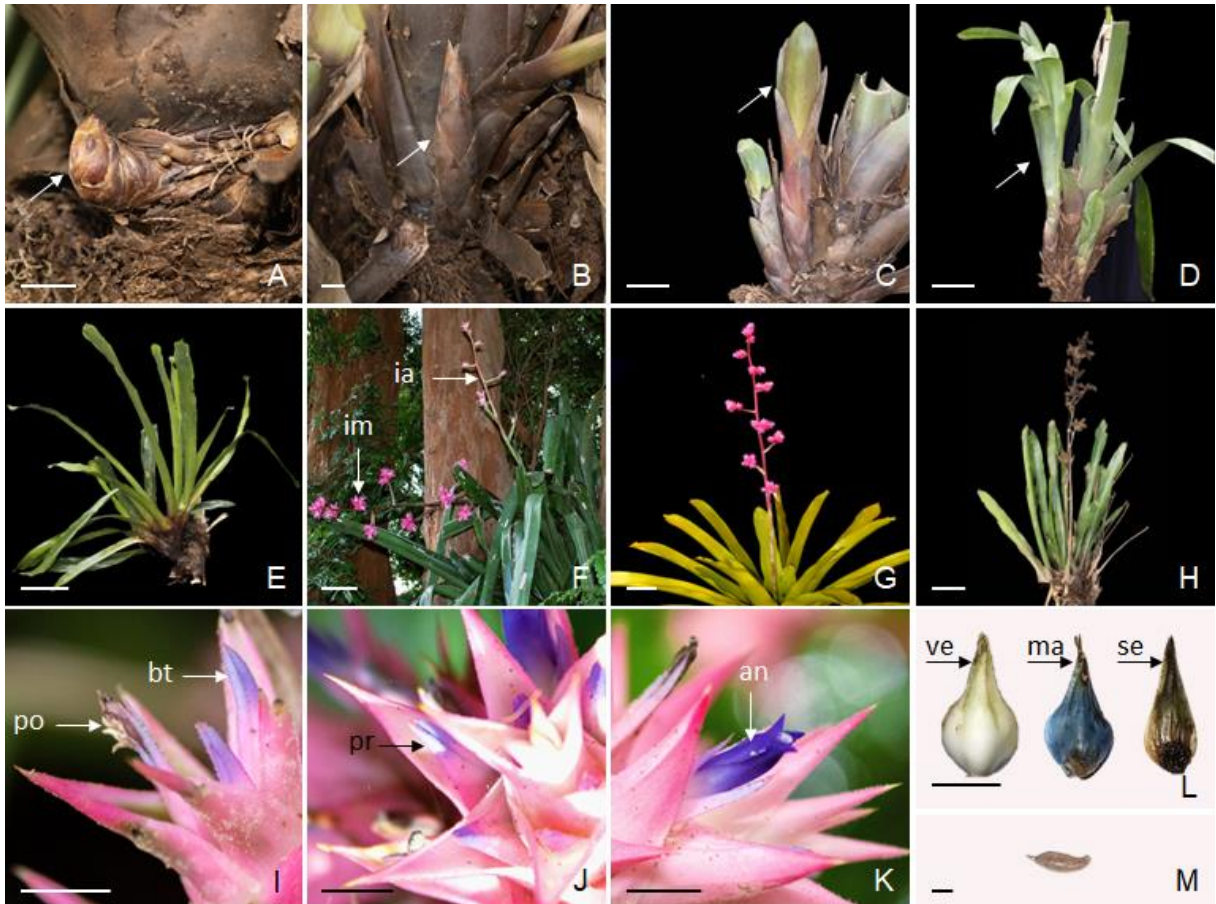
Ambas as espécies possuem flores em antese iniciando entre 5h40 e 6h, com fechamento total da flor entre 17h e 17h20. As fases vegetativas das duas espécies, quando surgem a partir de um ramo lateral, levam em torno de dois anos até o florescimento (Figura 2A-E, 3A-B, 4A-E, 5A-B). O período de floração de *H. amargosensis* acontece nos meses de março a maio e em *H. stellata* nos meses de outubro a fevereiro (Figuras 3C e 5C). A frutificação de *H. amargosensis* ocorre de março a agosto (Figura 3D-E) e *H. stellata* nos meses de outubro a junho (Figura 5D-E).



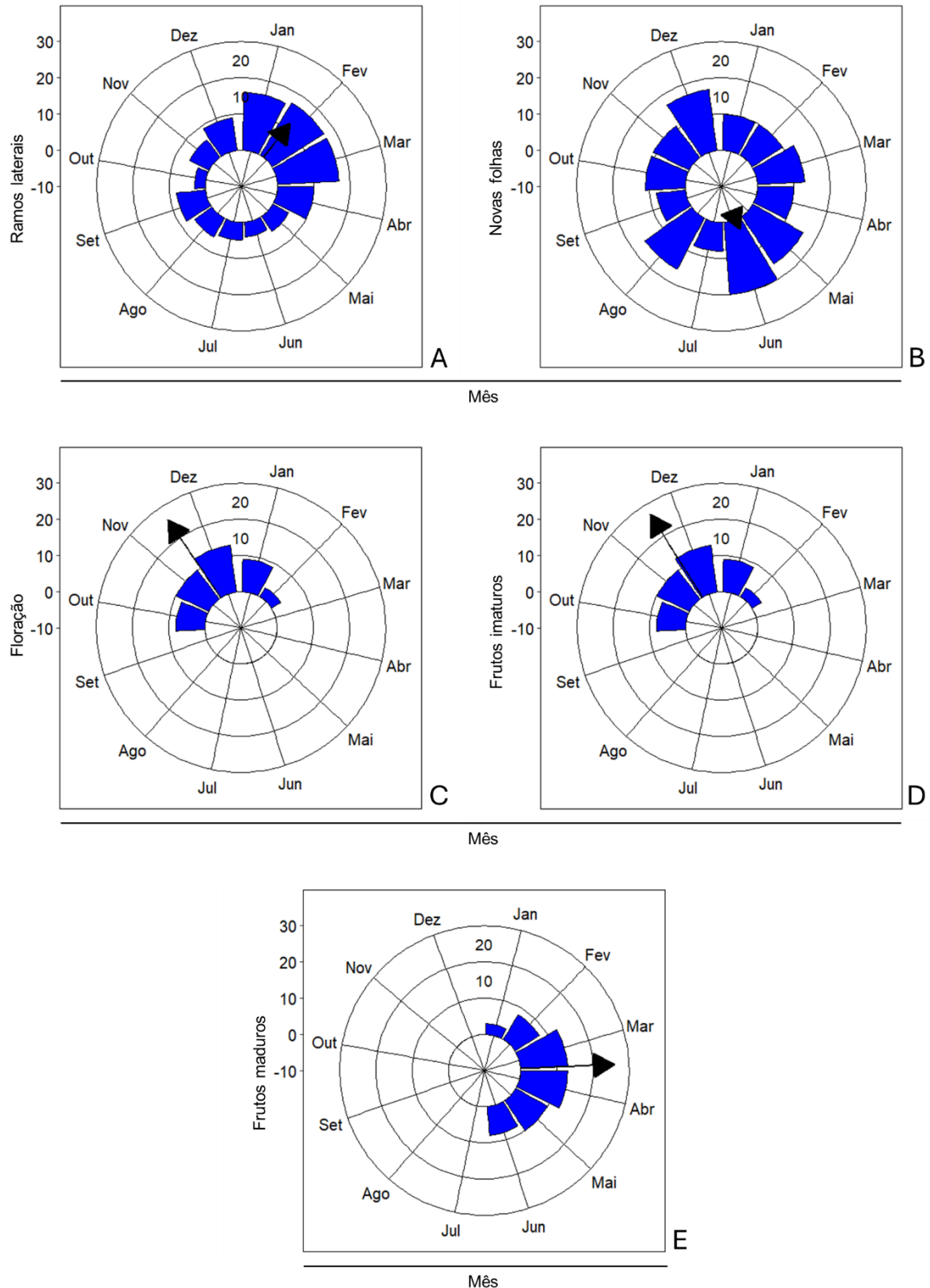
**Figura 2.** Fenologia de *Hohenbergia amargosensis* (Bromelioideae, Bromeliaceae) em fragmento florestal no município de Ubaíra, Bahia. A) Ramo lateral no 1<sup>o</sup> mês (8 cm). B) Planta jovem no 3<sup>o</sup> mês (23 cm). C) Planta jovem no 6<sup>o</sup> mês (59 cm). D) Planta jovem no 9<sup>o</sup> mês (98 cm). E) Planta jovem no 12<sup>o</sup> mês (121 cm). F) Inflorescência com 15 dias após seu surgimento (18 cm de altura); G) Planta adulta (130 cm de altura), inflorescência completamente formada aos 35 dias após seu surgimento, com abertura de primeiras flores (33 cm de altura). H) Planta adulta (140 cm de altura) em pleno florescimento aos 75 dias após seu surgimento. I) Inflorescência em senescência. J-K) Detalhe da inflorescência: bt = botão floral; p = flor em pré-antese; na = flor em antese; po = flor 24 h em pós-antese; ve = fruto verde; fm-Fruto maduro. L) Detalhes da flor (fl) e fruto (fr). M) Semente. Barras: A, J-L = 1 cm; B-C, F = 10 cm; D-E, G-I = 25 cm; M = 1mm.



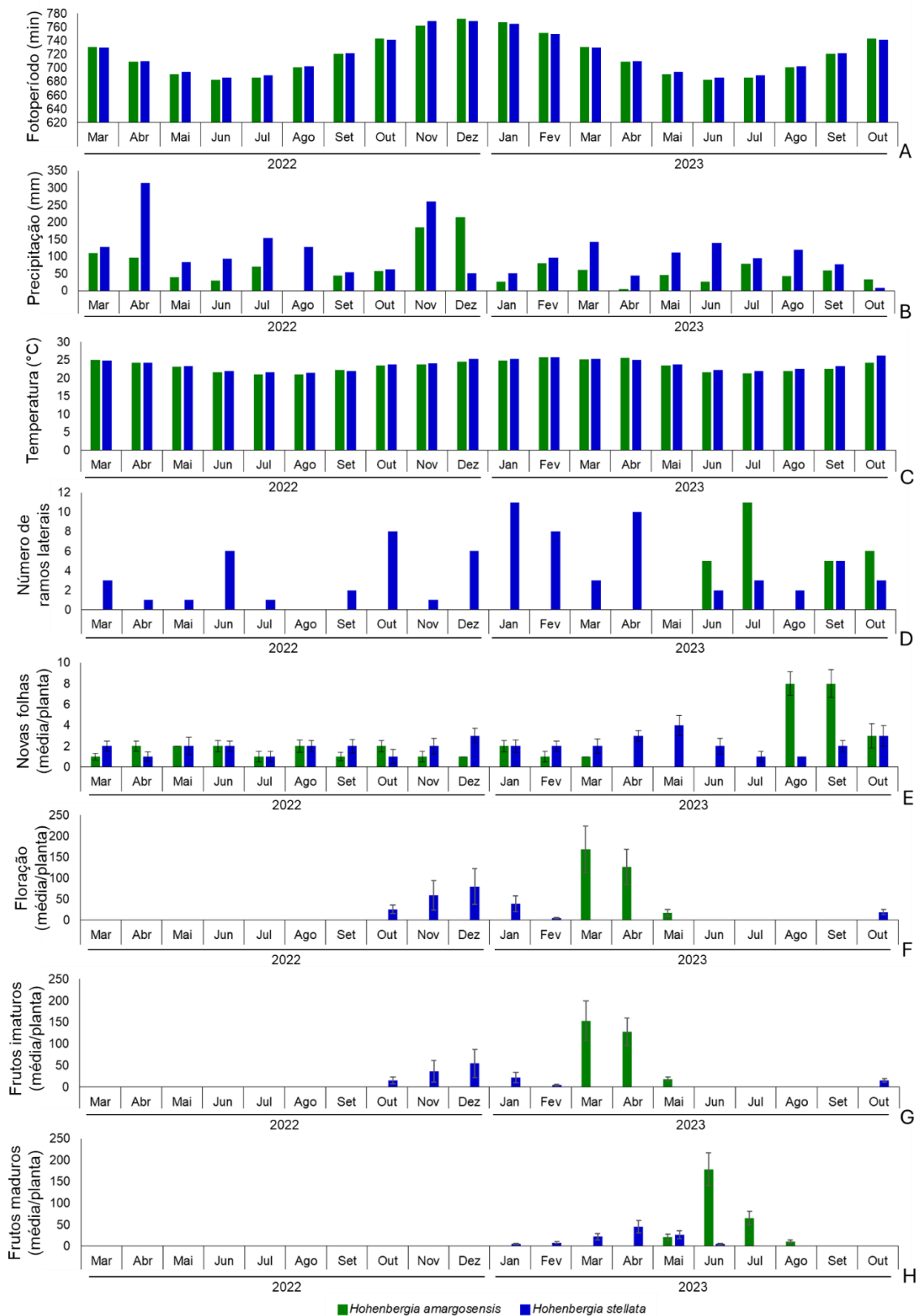
**Figura 3.** Histogramas circulares com as frequências de indivíduos de *Hohenbergia amargosensis* em diferentes fenofases em fragmento florestal no município de Ubaíra, Bahia, no período de novembro de 2022 a outubro de 2023. As setas representam o comprimento do vetor ( $r$ ) e indicam as datas médias das fenofases. A) Emissão de ramos laterais; B) Emissão de novas folhas; C) Floração; D) Frutos imaturos; E) Frutos maduros.



**Figura 4.** Fenologia de *Hohenbergia stellata* (Bromelioideae, Bromeliaceae) em fragmento florestal no município de Cruz das Almas, Bahia. A) Ramo lateral no 1<sup>o</sup> mês (2 cm). B) Ramo lateral no 3<sup>o</sup> mês (12 cm). C) Planta jovem no 6<sup>o</sup> mês (34 cm). D) Planta jovem no 9<sup>o</sup> mês (94 cm). E) Planta jovem no 12<sup>o</sup> mês (120 cm). F) Planta adulta (125 cm de altura): ia = inflorescência com 33 dias após seu surgimento (65 cm de altura); im = inflorescência completamente formada aos 55 dias após seu surgimento, com abertura das primeiras flores (75 cm de altura). G) Planta adulta (125 cm de altura) em pleno florescimento aos 65 dias após seu surgimento. H) Inflorescência em senescência. I-K) Detalhe da inflorescência: bt = botão floral; po = flor 24 h após antese; pr = flor em pré-antese; na = flor em antese. L) Frutos em diferentes fases de amadurecimento: ve - fruto imaturo; ma = fruto maduro; se = fruto em senescência decorrente de flor não fecundada (fruto sem semente); M) Semente madura. Barras: A-C, H-L = 1 cm; D = 10 cm; E-H = 25 cm; M = 1 mm.



**Figura 5.** Histogramas circulares com as frequências de indivíduos de *Hohenbergia stellata* em diferentes fenofases em fragmento florestal no município de Cruz das Almas, Bahia no período de novembro de 2022 a outubro de 2023. As setas representam o comprimento do vetor ( $r$ ) e indicam as datas médias das fenofases. A) Emissão de ramos laterais; B) Emissão de novas folhas; C) Floração; D) Frutos imaturos; E) Frutos maduros.



**Figura 6.** Dados climatológicos e fenológicos, mensais, de *H. amargosensis* e *H. stellata* (Bromelioideae, Bromeliaceae) em fragmentos florestais nos municípios de Ubaíra e Cruz das Almas, Bahia, respectivamente, no período de março de 2022 a outubro de 2023. A) Fotoperíodo. B) Precipitação. C) Temperatura. D) Número de

novos ramos laterais. E) Média de novas folhas/planta. F) Média de flores abertas/planta. G) Média de frutos imaturos/planta. H) Média de frutos maduros/planta.

A família Bromeliaceae possui padrão de floração variado, sendo encontradas espécies de padrão contínuo como *Pitcairnia nubigena* Planch. & Linden (AZUAJE; NARANJO, 2014), sub-anuais na espécie *Aechmea beeriana* Smith & Spencer e *A. nudicaulis* (L.) Griseb (NARA; WEBBER, 2002; RODARTE et al., 2022), anuais em *A. bracteata* (Sw.) Griseb., *Billbergia amoena* (Loddiges) Lindley, *Neoregelia cruenta* (Graham) L.B.Sm., *Pitcairnia heterophylla* (Lindl.) Beer, *Puya ctenorhyncha* L.B.Sm. *Vriesea neoglutinosa* Mez, *V. procera* (Mart. ex Schult.f.) Wittm. e *Tillandsia stricta* Sol (PISCINA-CHALÉ et al., 2017; RÍOS; CASCANTE-MARÍN, 2017; RODARTE et al., 2022; VELÁSQUEZ-NORIEGA; KRÖMER; PACHECO, 2023) e supra-anuais no caso de *T. gardneri* Lindl. (RODARTE et al., 2022), com maior número de espécies seguindo padrão anual.

*Hohenbergia amargosensis* é uma espécie de hábito terrícola, raramente ocorre como epífita, formando populações adensadas com cerca de 10 a 30 plantas em fragmentos florestais pouco manipulados. Entre dois a três meses após emissão dos ramos laterais, iniciam o surgimento dos nomofilos, em substituição aos catáfilos, quando já é considerada planta jovem (Figuras 2B-E, 3A e 6D), mantendo-se nessa fenofase até iniciar seu período reprodutivo com a emissão da inflorescência, o que ocorre de 17 a 21 meses após seu surgimento (Figuras 2F, 3C e 6F). Trinta e cinco dias após o início da emissão da inflorescência, há a abertura das primeiras flores, com duração da antese de 11h a 11h40 (Figura 2G). A pré-antese ocorre entre 10 a 20 horas antes da antese e pode ser diferenciada do botão floral pelo afastamento na parte superior das sépalas (Figura 2J). Todo o período de floração acontece de 35 a 63 dias, entre o final do verão e grande parte do outono no hemisfério sul (março-maio). Da polinização até a maturação do fruto são de 85 a 115 dias. Os frutos com sementes ficam azulados e se desprendem da planta. Flores não polinizadas ou com polinização incompatível emitiram frutos sem sementes, porém eles não maturaram, entraram em senescência entre 80 a 100 dias após a antese floral.

*Hohenbergia stellata* ocorre como epífita em touceiras individuais ou povoando forófitos normalmente sendo árvores de grande porte, até mesmo em centros urbanos, como em praças e jardins. Entre quatro a cinco meses após emissão dos ramos laterais, iniciam o surgimento dos nomofilos, em substituição aos catáfilos, quando passa a ser considerada planta jovem (Figuras 3C-E, 5A, 6D), mantendo-se nessa fenofase até o início do período reprodutivo com a emissão de ramos laterais (12 a 24 meses após o surgimento da rameta adulta) ou inflorescência (17 a 27 meses após surgimento da rameta adulta) (Figuras 3F, 5A e C e 6D e F). Cinquenta e cinco dias após o início da emissão da inflorescência ocorre a abertura das primeiras flores, com duração da antese de 11h a 11h30 (Figura 3 J). A pré-antese pode ser encontrada entre 10 e 20 horas antes da antese, sendo diferenciada do botão floral pelo afastamento na parte superior das sépalas (Figura 3 H-I). Todo o período de floração acontece de 47 a 93 dias, entre a primavera e o verão (outubro-fevereiro). Da polinização até a maturação do fruto são de 143 a 165 dias, quando há o desprendimento do fruto que também fica de coloração azul cintilante. Flores que não foram polinizadas ou com polinização incompatível emitiram frutos de coloração enegrecida, murchos e sem sementes, porém eles entraram em senescência entre 125 e 148 dias após a antese floral (Figura 3K).

A duração de dois anos para o ramo lateral alcançar a fenofase de floração foi uma característica também encontrada em *Alcantarea nahoumii* (Leme) J.R.Grant

(BASTOS et al., 2017). O florescimento natural em Bromeliaceae tanto pode ser influenciado por fatores ambientais quanto é necessariamente ligado a taxa de desenvolvimento da planta, sendo preciso que atinja porte adequado e maturidade ontogenética para que responda aos estímulos internos e externos (MEKERS; DE PROFT, 1983; CUNHA, 2009).

Em Bromeliaceae, a formação de flores está relacionada a biossíntese de etileno, estimulada com participação da auxina (TAIZ et al., 2017; COUTINHO NETO; SILVA; SILVA, 2023). O etileno, quando direcionado, é responsável por induzir a emissão de ramos laterais (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014; COUTINHO NETO; SILVA; SILVA, 2023). É provável que em *H. amargosensis* a indução do etileno para emissão de ramos laterais só ocorra após o florescimento, enquanto que em *H. stellata* esse direcionamento já inicie quando a planta completa cerca de um ano.

Durante o florescimento há também um aumento na atuação da giberelina (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2014; TAIZ et al., 2017; 2021). Tal fitohormônio é o responsável pela formação de frutos partenocárpicos e por reprimir a senescência, sendo sintetizado inclusive em frutos imaturos, onde sua taxa é altamente reduzida ao iniciar o processo de maturação (TAIZ et al., 2017; 2021; SALDANHA; SANTOS, 2018). Esse pode ser o principal fator da senescência dos frutos sem sementes nas espécies estudadas, já que a função fundamental do fruto é ser um atrativo para a sua dispersão (TAIZ et al., 2017; SALDANHA; SANTOS, 2018).

*Hohenbergia amargosensis* possui um ou raramente dois ramos laterais (Figuras 2A e 3A), sempre após o florescimento, com todos desenvolvendo-se bem nas demais fases, em condições normais. Já em *H. stellata*, o número de ramos laterais variam de três a dez, durante todo o ano (Figuras 4A e 5A), surgindo até mesmo oito meses antes da planta mãe emitir inflorescência (Figuras 6D e 6F), com percentual de mortalidade de 40% antes da fase de rameta jovem (Figuras 2C e 2D). A projeção de ramos laterais apenas após o fim da floração foi uma característica também observada em *Neoglaziovia variegata* Mez (PEREIRA; QUIRINO, 2008) e *A. nahoumii* (BASTOS et al., 2017).

A precocidade na fase de reprodução assexuada em *H. stellata*, em relação a *H. amargosensis*, justifica o fato de que, apesar de ambas as espécies em estudo levarem aproximadamente dois anos para chegarem da fenofase ramo lateral até a floração, a *H. stellata* é uma planta com floração anual, enquanto *H. amargosensis* é supra-anual.

A emissão de vários ramos laterais durante o ano por *H. stellata*, principalmente em períodos de menor precipitação e altas temperaturas pode estar relacionado ao fato de que plantas epífitas são muito vulneráveis a mudanças ambientais, principalmente a umidade e temperatura, podendo abortar ramos laterais em momento de baixa umidade (CERVANTES; GRAHAM; ANDRADE, 2005; WAGNER; MENDIETA-LEIVA; ZOTZ, 2015; TICKTIN; MONDRAGÓN; GAOUE, 2016; LÓPEZ-LÓPEZ; PARRA-TABLA; MODRAGÓN, 2021). Ao mesmo tempo que esse foi o período de maior produção de ramos laterais em *H. stellata*, também foi o que houve maior senescência deles.

Em *H. amargosensis*, todas as fenofases avaliadas apresentaram-se como fortemente sazonais (Figura 3), com comprimento do vetor  $r$  variando de 0,59 para surgimento de novas folhas a 0,96 na floração (Tabela 2) e significância  $< 0,0001$  pelo teste de Rayleigh. Já em *H. stellata*, as fenofases floração ( $r=0,88$ ), frutos imaturos ( $r=0,89$ ) e frutos maduros ( $r=0,87$ ) apresentaram alta sazonalidade, a brotação ( $r=0,41$ ) baixa sazonalidade e novas folhas ( $r=11$ ) possui maior homogeneidade entre



os meses (Figura 5), não apresentando significância pelo teste de Rayleigh ( $p=0,7457$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resultados da estatística circular para as variáveis fenológicas ramos laterais, novas folhas, floração, frutos imaturos e frutos maduros de *Hohenbergia amargosensis* e *H. stellata* (Bromelioideae, Bromeliaceae) em fragmentos florestais nos municípios de Ubaíra, Bahia e Cruz das Almas, Bahia, respectivamente, no período de novembro de 2022 a outubro de 2023.

	Estádios	Data média	Ângulo médio	Comprimento do vetor (r)	Desvio padrão angular	Teste de Rayleigh (p)
<i>Hohenbergia amargosensis</i>	Ramos laterais	30/jul	209,53°	0,77	40,93°	<0,0001
	Folhas	09/set	249,72°	0,59	58,70°	<0,0001
	Floração	17/mar	75,26°	0,96	17,36°	<0,0001
	Frutos imaturos	18/mar	76,42°	0,95	17,65°	<0,0001
	Frutos maduros	05/jun	154,03°	0,95	18,02°	<0,0001
<i>Hohenbergia stellata</i>	Ramos laterais	07/fev	37,99°	0,41	76,08°	<0,0001
	Folhas	10/jun	159,75°	0,11	120,56	0,7457 <sup>ns</sup>
	Floração	01/dez	331,40°	0,88	28,45°	<0,0001
	Frutos imaturos	03/dez	333,32°	0,89	27,89°	<0,0001
	Frutos maduros	30/mar	88,80°	0,87	29,80°	<0,0001

<sup>ns</sup> valor não significativo a 5% de probabilidade.

Algumas espécies de Bromeliaceae manifestam sazonalidade em suas fenofases, principalmente na floração (MARQUES; LEMOS-FILHO, 2008; PEREIRA; QUIRINO, 2008; LÓPEZ-LÓPEZ; PARRA-TABLA; MODRAGÓN, 2021), mantendo padrões sazonais de alta sincronia reprodutiva na população (CASCANTE-MARÍN; TREJOS; ALVARADO, 2017). Essa estratégia, unida ao fato de que muitas espécies de Bromeliaceae produzem poucas flores por dia (MACHADO; SEMIR, 2006), possibilita a exogamia e o fluxo genético entre os indivíduos (CASCANTE-MARÍN; TREJOS; ALVARADO, 2017).

Os Modelos Lineares Generalizados (GLMs) evidenciaram que em nenhuma das espécies estudadas, o fotoperíodo possui relação com a ocorrência das fenofases (Tabela 3). Em *H. amargosensis*, os períodos de brotação ( $z = 1,998$ ) e floração ( $z = 3,545$ ) apresentaram relação positiva com a precipitação, indicando que em tempos mais chuvosos há maior ocorrência da fenofase, já o surgimento de novas folhas ( $z = -3,707$ ), frutos imaturos ( $z = -2,214$ ) e maduros ( $z = -6,134$ ) resultaram em relação negativa, indicando que em períodos de menor precipitação há maior ocorrência desses eventos fenológicos (Tabela 3 e Figura 5).

**Tabela 3.** Resultados de Modelos Lineares Generalizados (GLMs) mostrando os efeitos de fotoperíodo, precipitação e temperatura na emissão de ramos laterais, novas folhas, floração, frutos imaturos e frutos maduros de *Hohenbergia amargosensis* e *Hohenbergia stellata* (Bromelioideae, Bromeliaceae) em fragmentos florestais nos municípios de Ubaíra, Bahia e Cruz das Almas, Bahia, respectivamente, no período de março de 2022 a outubro de 2023.

	Estádios	Fotoperíodo		Precipitação		Temperatura	
		Valor (z)	p	Valor (z)	p	Valor (z)	p
<i>Hohenbergia amargosensis</i>	Ramos laterais		ns	1,998	<b>0,0458</b>		ns
	Folhas		ns	-3,707	<b>0,0002</b>	-4,377	<b>&lt;0,0001</b>
	Floração		ns	3,545	<b>0,0003</b>	10,887	<b>&lt;0,0001</b>
	Frutos imaturos		ns	-2,214	<b>0,0268</b>	10,364	<b>&lt;0,0001</b>
	Frutos maduros		ns	-6,134	<b>&lt;0,0001</b>	-7,258	<b>&lt;0,0001</b>
<i>Hohenbergia stellata</i>	Ramos laterais		ns	-1,999	<b>0,0456</b>	6,493	<b>&lt;0,0001</b>
	Folhas		ns	-2,445	<b>0,0145</b>	3,432	<b>0,0006</b>
	Floração		ns	-2,058	<b>0,0396</b>	4,024	<b>&lt;0,0001</b>
	Frutos imaturos		ns	-2,230	<b>0,0376</b>	3,842	<b>0,0001</b>
	Frutos maduros		ns	-2,275	<b>0,0229</b>	2,083	<b>0,0372</b>

ns valores não significativos a 5% de probabilidade.

Em relação a temperatura, as brotações de *H. amargosensis* não obtiveram correlação significativa ( $p > 0,05$ ), porém a floração e frutos imaturos apresentaram alta relação com valor (z) de 10,887 e 10,364, respectivamente, indicando influência de altas temperaturas nessas fenofases. Inversamente, estão a emissão de novas folhas e frutos maduros com valor (z) de -4,377 e -7,258, respectivamente, sugerindo que essas fenofases possuem maior atividade em baixas temperaturas (Tabela 3 e Figura 6).

Todas as fenofases em *H. stellata* apresentaram correlação negativa com a precipitação, variando de  $z = -1,999$  para emissão de ramos laterais a  $z = -2,445$  para surgimento de novas folhas, o que aponta a uma maior atividade em períodos de menor precipitação. Já em relação a temperatura, as fenofases são mais evidentes em períodos mais quentes do ano, com valor (z) variando entre 2,083 para frutos maduros a 6,493 para emissão de ramos laterais (Tabela 3 e figura 6).

As bromélias tanques possuem a capacidade de armazenar água em função da organização espiralada e imbricada das folhas, portanto quanto maior a quantidade de folhas ou área do tanque, mais água poderá ser acumulada (ROCHA et al. 2004; COGLIATTI-CARVALHO et al., 2010). Esse fator, unido ao metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), encontrado na maioria das espécies da subfamília Bromelioideae, inclusive *H. stellata* (KLUGE; TING, 1978; MEDINA, 1987; SCHULTE; HORRES; ZIZKA, 2005), que fornece maior eficiência ao uso da água por essas plantas e grande adaptação a ambientes com amplitude térmica (KLUGE; TING, 1978; TAIZ et al, 2017; 2021), pode ser o indicativo para justificar a incidência positiva no

surgimento de novas folhas e demais fenofases, mesmo em períodos de baixa precipitação e altas temperaturas.

Segundo Marques e Lemos Filho (2008), um fator que possibilita as bromélias de tanque florescerem em períodos com menor pluviosidade é a morfologia dessa estrutura. Para os autores, espécies que possuem capacidade de acumular e reter água em maior volume por longos períodos, conseguem dispensar suprimentos suficientes para o florescimento, mesmo em estação seca, sugerindo que esta é uma estratégia para diminuir a competição por polinizadores. Isso justifica o fato de *H. stellata* florescer em baixa precipitação, já que a morfologia do seu tanque permite acumular mais água em comparação a *H. amargosensis*. Os mesmos autores definem também que bromélias que acumulam pouca água tendem a florescer em períodos de maior precipitação, justificando o que ocorre com *H. amargosensis*.

Os fatores temperatura e precipitação afetam os sistemas biológicos, alterando o desenvolvimento, produção, reprodução e até mesmo sobrevivência de espécies (GIRI et al., 2023). Em tempos de mudanças climáticas torna-se necessário entender como essas alterações afetam as fenofases das plantas (BITENCOURT et al., 2016). Após estudo sobre a aceleração da extinção devido a mudanças climáticas, Urban (2015), estimou que aproximadamente 7,9% das espécies entrem em risco de extinção, principalmente aquelas endêmicas, em decorrência das alterações no clima, sobretudo pelo aumento da temperatura global, de modo que estratégias de preservação devem ser implementadas (URBAN, 2015). As mudanças climáticas podem alterar o florescimento das plantas, diminuindo o número de flores, grãos de pólen e néctar produzidos, afetando também as espécies polinizadoras (GIRI et al., 2023).

## Sistemas reprodutivos

Foram observados diferentes sistemas reprodutivos nas sete espécies de *Hohenbergia*, sendo a reprodução alogâmica presente em 100% das espécies (Tabelas 4 e 5). Sistema misto foi observado em *H. capitata* e *H. nidularioides* com formação de frutos e sementes, principalmente, na autopolinização manual, conferindo a estas duas espécies também a autogamia. Não foi verificada agamospermia (apomixia) em nenhuma das espécies de *Hohenbergia* (Tabela 4 e Figura 7 A-B).

Todos os frutos contabilizados em polinização natural apresentaram sementes em número superior aos demais tratamentos, com uma variação de  $53 \pm 4$  em *H. stellata* a  $108 \pm 13$  em *H. ituberaensis*. Esses resultados, confirmam a eficiência reprodutiva dessas espécies e a presença de polinizadores efetivos nas diferentes áreas de ocorrência (Tabela 4).

Em polinização cruzada, a porcentagem de formação de frutos nas espécies foi acima de 72% (*H. nidularioides*), sendo 100% em *H. amargosensis*, *H. ituberaensis* e *H. stellata*. Neste mesmo sistema de reprodução, o número de sementes variou de  $33 \pm 6$  em *H. stellata* e  $72 \pm 8$  em *H. capitata*, valores inferiores ao sistema de polinização natural. Geitonogamia só foi observada em *H. capitata* e *H. nidularioides* com 100% de formação de frutos com sementes e um número reduzido de sementes.

Dentre as Bromeliaceae, pode ser encontrada uma diversidade de estratégias reprodutivas, tanto assexuada quanto sexuada, com plantas que se propagam via rebentos (ramos laterais) ou estolões (BENZING, 2000), além de apomixia, cleistogamia, autogamia e alogamia (GILMARTIN; BROWN, 1985; MATALLANA et al.

2010; SOUZA et al., 2017; CAVALCANTE et al., 2020b; CASCANTE-MARÍN; NÚÑEZ-HIDALGO, 2023; MOTA et al., 2023).

A agamospermia (apomixia) é uma estratégia pouco comum na maioria das plantas, ocorrendo apenas naquelas que possuem adaptações necessárias para a formação de sementes sem a fertilização dos óvulos (CRUZ; FEDERIZZI; MILACH, 1998). Na família Bromeliaceae, existem espécies que podem apresentar esse modo de reprodução, inclusive envolvendo um sistema misto, com plantas que geram sementes por meio da alogamia, autogamia e apomixia, como observado em *Aechmea bromeliifolia* (Rudge) Baker ex Benth. & Hook.f. e *Aechmea distichantha* Lem. (SOUZA et al., 2017).

**Tabela 4.** Porcentagem de frutos com sementes e número de sementes produzidas nos diferentes sistemas reprodutivos, em sete espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae).

Espécies	Frutos com sementes*					
	Polinização Natural	Autopolinização Espontânea	Autopolinização Manual	Geitonogamia	Polinização Cruzada	Agamspermia
<i>H. amargosensis</i>	100 (45/45)	0 (0/30)	0 (0/30)	0 (0/30)	100 (30/30)	0 (0/30)
<i>H. belemii</i>	100 (25/25)	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/15)	88 (22/25)	0 (0/20)
<i>H. capitata</i>	100 (30/30)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (20/20)	93 (26/28)	0 (0/15)
<i>H. ituberaensis</i>	100 (30/30)	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	100 (20/20)	0 (0/20)
<i>H. nidularioides</i>	100 (25/25)	0 (0/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	72 (18/25)	0 (0/15)
<i>H. rosea</i>	100 (30/30)	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	90 (18/20)	0 (0/15)
<i>H. stellata</i>	100 (30/30)	0 (0/30)	0 (0/30)	0 (0/30)	100 (30/30)	0 (0/30)
Espécies	Sementes por frutos**					
<i>H. amargosensis</i>	83 ± 12	0	0	0	60 ± 5	0
<i>H. belemii</i>	79 ± 7	0	0	0	71 ± 5	0
<i>H. capitata</i>	85 ± 11	37 ± 4	59 ± 2	56 ± 2	72 ± 8	0
<i>H. ituberaensis</i>	108 ± 13	0	0	0	52 ± 3	0
<i>H. nidularioides</i>	58 ± 9	0	27 ± 4	38 ± 5	48 ± 13	0
<i>H. rosea</i>	78 ± 16	0	0	0	66 ± 11	0
<i>H. stellata</i>	53 ± 4	0	0	0	33 ± 6	0
Espécies	Índice			Sistema Reprodutivo		
	IA	IAI	EF			
<i>H. amargosensis</i>	0,00	0,00	1,00	AI = autoincompatível		
<i>H. belemii</i>	0,00	0,00	1,14	AI = autoincompatível		
<i>H. capitata</i>	0,51	0,82	1,07	AC = parcialmente autocompatível		
<i>H. ituberaensis</i>	0,00	0,00	1,00	AI = autoincompatível		
<i>H. nidularioides</i>	0,00	0,56	1,39	AC = parcialmente autocompatível		
<i>H. rosea</i>	0,00	0,00	1,11	AI = autoincompatível		
<i>H. stellata</i>	0,00	0,00	1,00	AI = autoincompatível		

\* Porcentagem de frutos (frutos com sementes/ flores polinizadas).

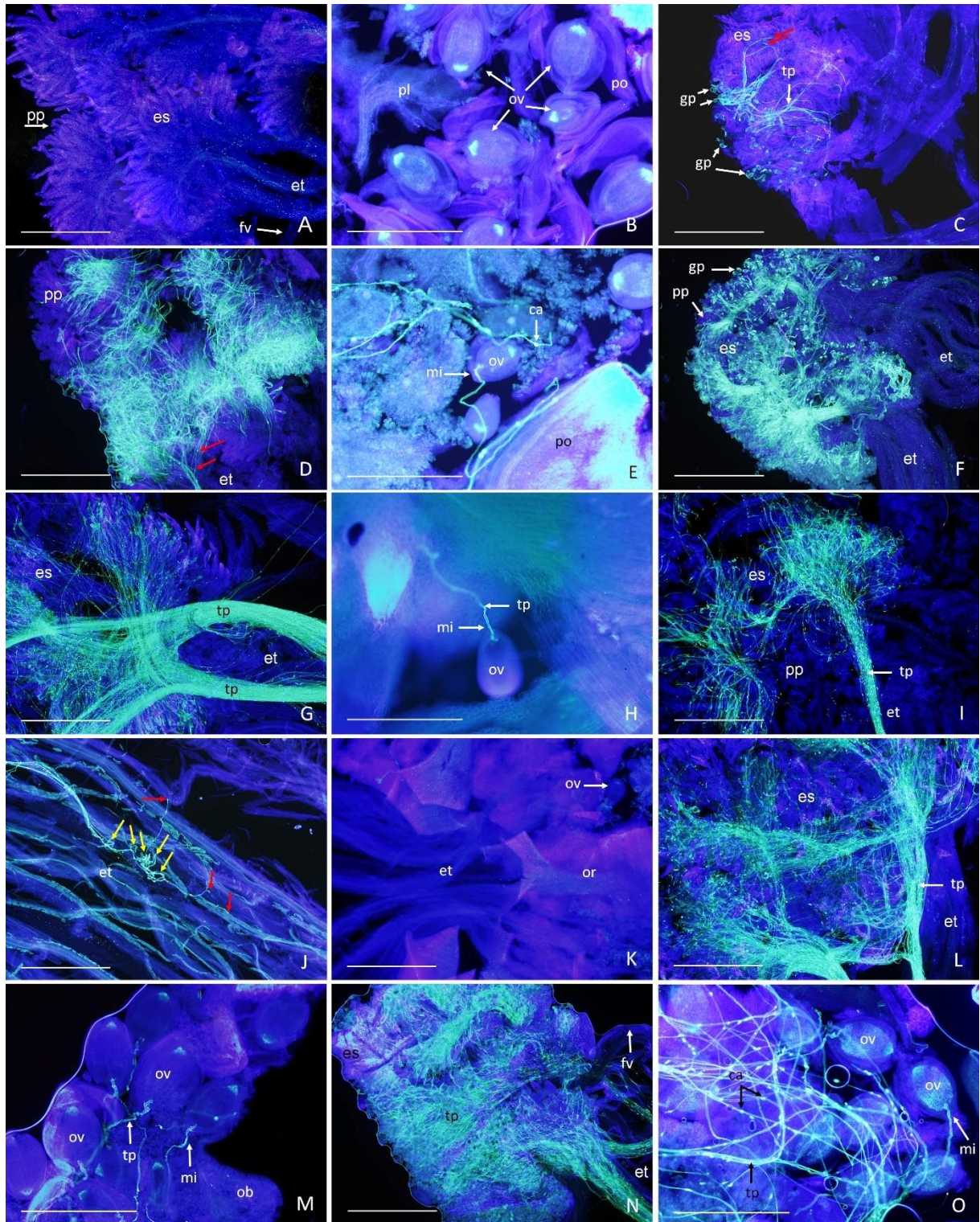
\*\* Média ± desvio padrão de sementes obtidas por flor (menor número de sementes por frutos – maior número de sementes por fruto).

IA = índice de autogamia (autopolinização espontânea/ polinização cruzada); IAI = índice de autoincompatibilidade (autopolinização manual/ polinização cruzada). EF = eficiência reprodutiva (porcentagem de frutos formados com sementes de polinização natural/ porcentagem de frutos formados com sementes por polinização cruzada). AI = autoincompatível (IAI é inferior a 0,30) AC = parcialmente autocompatível (IAI foram acima de 0,30).

**Tabela 5.** Avaliação quanto à germinação dos grãos de pólen e crescimento dos tubos polínicos no pistilo nos diferentes sistemas reprodutivos em sete espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae).

Espécie	Polinização natural				Autopolinização espontânea				Autopolinização manual			
	GPSE	GPGE	CTPP	OTPM	GPSE	GPGE	CTPP	OTPM	GPSE	GPGE	CTPP	OTPM
<i>H. amargosensis</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)
<i>H. belemii</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)
<i>H. capitata</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>H. ituberaensis</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	2 (60%) 0 (40%)	2 (60%) 0 (40%)	2 (60%) 0 (40%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)
<i>H. nidularioides</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>H. rosea</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)
<i>H. stellata</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	2 (50%) 0 (50%)	2 (50%) 0 (50%)	2 (50%) 0 (50%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)
	Geitonogamia				Polinização cruzada				Agamospermia			
<i>H. amargosensis</i>	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>H. belemii</i>	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>H. capitata</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>H. ituberaensis</i>	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>H. nidularioides</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>H. rosea</i>	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>H. stellata</i>	3 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)

GPSE = grãos de pólen que aderido à superfície do estigma; GPGE = grãos de pólen germinados na superfície do estigma foram avaliados de acordo a escala: 0) ausente; 1) 1 a 25 grãos de pólen; 2) 25 a 50 grãos de pólen; 3) > 50 grãos de pólen. OTPM = óvulos com tubo polínico penetrado na micrópila: 0) ausente; 1) 1 a 5 óvulos; 2) 5 a 10 óvulos; 3) > 10 óvulos. CTPP = crescimento do tubo polínico no pistilo foi avaliado conforme escala: 0) grãos de pólen não germinados na superfície do estigma; 1) grãos de pólen germinados na superfície do estigma; 2) tubos polínicos paralisados no primeiro terço do estilete; 3) tubos polínicos paralisados no segundo terço do estilete; 4) tubos polínicos paralisados no terceiro terço do estilete; 5) tubos polínicos na região do ovário; 6) tubo polínico próximo ao óvulo; 7) tubo polínico penetrando na micrópila.



**Figura 7.** Crescimento do tubo polínico no estigma nos diferentes sistemas reprodutivos por meio da microscopia de fluorescência com solução de azul de anilina em espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae). A) Estigma de *H. nidularioides* evidenciando a não deposição de grãos de pólen em agamospermia; B) Óvulos de *H. belemii* sem presença de tubo polínico (não fecundados) em agamospermia; C) Estigma de *H. ituberaensis* com pouca deposição de grãos de pólen em autopolinização espontânea e germinação no primeiro terço do estilete com deposição de calose; D) Estigma de *H. capitata* com muita deposição de pólen em autopolinização espontânea, evidenciando deposição de calose e germinação do tubo

polínico no estilete; E) Óvulos de *H. capitata* fecundados em autopolinização espontânea; F) Estigma de *H. ituberaensis* com muita deposição de grãos de pólen e germinação apenas no primeiro terço do estilete, sem adentrar no estilete, em autopolinização manual; G) Estigma de *H. nidularioides* com muita deposição de grãos de pólen germinando e tubo polínico no estilete em autopolinização manual; H) Óvulo de *H. nidularioides* fecundado em autopolinização manual; I) Estigma de *H. capitata* em geitonogamia, com deposição de grãos de pólen e tubo polínico no estilete; J) Segundo terço do estilete de *H. belemii* evidenciando enovelamento do tubo polínico e formação de calose, característico de incompatibilidade; K) Terceiro terço do estilete e início do ovário de *H. capitata* sem registro de tubo polínico em geitonogamia; L) Estigma de *H. amargosensis* com muita deposição de grãos de pólen em polinização cruzada evidenciando a germinação do tubo polínico no estigma e estilete; M) Óvulos de *H. amargosensis* fecundados em polinização cruzada; N) Estigma de *H. stellata* com muita deposição de grãos de pólen em polinização natural evidenciando a germinação do tubo polínico no estigma e estilete; O) Óvulos de *H. ituberaensis* fecundados em polinização natural. ca = placas de calose; es = estigma; et = estilete; fv = feixe vascular; gp = grãos de pólen; mi = micrópila; or = ovário; ov = óvulo; pl = placenta; po = parede ovariana; pp = papilas estigmáticas; seta amarela = enovelamento dos tubos polínicos; seta vermelha = deposição reticulada de calose na extremidade inferior do tubo polínico. Barras: A, C-D, F-G, I-L, N= 1 mm; B, E, H, M, O = 500  $\mu$ m.

Por meio da microscopia de fluorescência dos sistemas de autopolinização espontânea e autopolinização manual, em *H. capitata* pode-se observar muita deposição de grãos de pólen na superfície do estigma, com tubos polínicos penetrando na micrópila e fecundação de mais de dez óvulos (Tabela 5 e Figura 7). Esse resultado corrobora com 100% da formação de frutos, com variação apenas no número de sementes (autopolinização espontânea =  $37 \pm 4$ ) e (autopolinização manual =  $59 \pm 2$ ), com índice de autogamia (IA = 0,51) e autoincompatibilidade (IAI = 0,82), classificando esta espécie como autógama (Tabela 4 e Figura 7).

Em *H. nidularioides*, não houve deposição de grãos de pólen na superfície do estigma em autopolinização espontânea. Porém, em autopolinização manual foi possível observar muitos grãos de pólen fixados na superfície do estigma com germinação dos tubos polínicos seguindo no estilete e penetrando na micrópila e consequentemente fecundando inúmeros óvulos (Tabela 5 e Figura 7). Esse resultado permitiu a formação de frutos com sementes em autopolinização manual, com 100% de sucesso reprodutivo e média de  $27 \pm 4$  sementes, classificando *H. nidularioides* como autocompatível (IAI = 0,56) (Tabela 4 e Figura 7).

A autocompatibilidade pode estar relacionada com a coesão e isolamento de espécies em ambientes com alta diversidade (WENDT et al., 2002; MATALLANA et al., 2010). Inúmeras espécies autocompatíveis são relatadas na literatura, principalmente nas subfamílias Pitcairnioideae e Tillandsioideae (CASCANTE-MARÍN; NÚÑEZ-HIDALGO, 2023), mas também em algumas Bromelioideae, como *Aechmea bromeliifolia* (Rudge) Baker ex. Benth. & Hook.f., *Aechmea distichantha* Lem., *Ananas macrodentes* E.Morren, *Wittmackia patentissima* (Mart. ex Schult. & Schult.f.) Mez, *Hohenbergia ridleyi* (Baker) Mez, e *Lymania smith* Read (WOLOWSKI et al., 2013; SOUZA et al., 2017; CAVALCANTE et al., 2020b; MOTA et al., 2023).

A ausência de deposição de grãos de pólen na superfície do estigma em *H. nidularioides* na autopolinização espontânea é devido a heterostilia, um tipo de hercogamia, que é caracterizada por apresentar flores com gineceu longos e androceu



curtos (morfo longistilo) (BARRET, 1992; 2019). Para que a autopolinização espontânea ocorra, é necessário que os grãos de pólen alcancem a superfície do estigma da mesma flor que o originou, de forma natural, resultando na autogamia (SHIVANNA, 2015). Quando há uma separação espacial entre anteras e estigma, a autopolinização só é possível com auxílio de um agente polinizador (WEBB; LLOYD, 1986; OPEDAL, 2018). A existência dessa barreira reprodutiva, juntamente com os fatos de ocorrerem sucesso tanto na autopolinização manual quanto nas polinizações cruzadas, permite classificar *H. nidularioides* como xenógama facultativa, já que, apesar de exigir a ação de um polinizador, é compatível em autopolinização (CRUDEN, 1977).

Da mesma forma que ocorreu com *H. nidularioides*, não foram encontrados grãos de pólen na superfície do estigma em autopolinização espontânea nas espécies *H. amargosensis*, *H. belemii* e *H. rosea*. Em *H. ituberaensis* e *H. stellata*, foi possível quantificar entre 25 e 50 grãos de pólen no estigma nos testes de autopolinização espontânea, em 60% e 50% das flores avaliadas, respectivamente, porém os tubos polínicos cessaram o seu crescimento no primeiro terço do estilete (Tabela 5 e Figura 7). Essas mesmas cinco espécies, em autopolinização manual, foram observadas muita deposição de grãos de pólen na superfície do estigma, mas em todas, a germinação não ultrapassou o primeiro terço do estilete, impossibilitando a fecundação dos óvulos e formação de frutos com sementes, sendo categorizadas como autoincompatíveis (Tabelas 4, 5 e Figura 7).

A autoincompatibilidade é um importante mecanismo reprodutivo em que a planta, obrigatoriamente, necessita que ocorra a polinização cruzada para que a fertilização seja efetiva e haja a formação de frutos com sementes viáveis, evitando o cruzamento com gametas geneticamente semelhantes (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002). Para que isso ocorra, as plantas possuem barreiras físicas ou mecanismos de reconhecimento molecular que impedem a fecundação dos óvulos em ocasiões de autopolinização (TAIZ et al., 2017; 2021). No caso da família Bromeliaceae, diversos autores apontam a autoincompatibilidade como gametofítica, com a germinação dos grãos de pólen e paralização nos terços do estilete (SOUZA et al., 2017; CAVALCANTE et al., 2020b; MOTA et al., 2023).

Assim, é possível aumentar a variabilidade genética nessas espécies ao potencializar o fluxo de grãos de pólen entre as plantas, evitando a depressão por endogamia ao promover heterozigosidade (CHARLESWORTH, 2006; GANGULY; BARUA, 2021; CASCANTE-MARÍN; NÚÑEZ-HIDALGO, 2023). Tal estratégia permite que ocorra a sobrevivência ou adaptação de determinada espécie a diferentes ambientes, com variações bióticas e abióticas ao longo do tempo (CHARLESWORTH, 2006; GANGULY; BARUA, 2021).

Nos testes de geitonogamia, as sete espécies apresentaram muita deposição de grãos de pólen na superfície do estigma. A paralização do tubo polínico no primeiro terço do estilete ocorreu em *H. amargosensis*, *H. ituberaensis*, *H. rosea* e *H. stellata* e em *H. capitata* e *H. nidularioides*, foi observada a germinação do tubo polínico ocorrendo de forma regular com penetração na micrópila em diversos óvulos, o que foi possível ver a formação de 100 % de frutos com sementes (Tabelas 4, 5 e Figura 7). Ainda em geitonogamia, *Hohenbergia belemii* apresentou tubos polínicos paralisados com deposição de calose na ponta dos tubos e enovelamento no segundo terço do estilete, impedindo desta forma a fertilização e formação de sementes (Tabela 5 e Figura 7I-K).

Esses diferentes eventos observados nos tubos polínicos caracterizam a incompatibilidade nas espécies como barreiras pré-zigóticas (Figura 7). Essas

barreiras impedem a fecundação por meio de obstáculos de caráter espacial, temporal, por incompatibilidade genética ou por modificações na estrutura floral (RIESEBERG, 2007; GOUVEIA; PINHEIRO, 2015).

Barreiras por incompatibilidade genética tanto podem ser ocasionadas por incompatibilidade esporofítica, quanto gametofítica, como no caso das espécies de Bromeliaceae, que na maioria das vezes, cessam o desenvolvimento do tubo polínico no estilete após ele já ter germinado na superfície do estigma (TAIZ et al., 2017; 2021; SOUZA et al., 2017; MOTA et al., 2023).

Todas as espécies de *Hohenbergia* estudadas no presente trabalho apresentaram eficiência reprodutiva acima de 1,00 (Tabela 4). A eficiência reprodutiva leva em consideração a produção de frutos com sementes sob condição máxima de polinização, estimando a eficiência da polinização natural (ZAPATA; ARROYO, 1978). Resultados acima de 1,00 são possíveis, devido a ocorrência de repetidas visitas do mesmo ou diferentes polinizadores em condições naturais, o que fornece maior probabilidade a um estigma ser polinizado enquanto receptivo (ZAPATA; ARROYO, 1978; NUCCI; ALVES-JUNIOR, 2017; GUOLLO et al., 2023).

Em muitas espécies, a ausência de polinizadores impacta diretamente na reprodução, causando baixa taxa de frutificação e produção de sementes, o que indica diferentes níveis de dependência a agentes para polinização (POLATTO, 2020). Um estudo em Bromeliaceae foi o registrado por Bastos et al. (2017), quando atribuiu a formação de apenas 35% dos frutos na polinização natural em *Alcantarea nahoumii* a baixa frequência de visitas florais na área de estudo.

A grande vantagem da polinização natural pode ser atribuída ao maior fluxo gênico entre plantas, mediado por ação dos polinizadores, que conseguem transportar os grãos de pólen de uma planta a outra por longas distâncias (MATALLANA et al. 2010; BASTOS et al., 2017).

### **Razão pólen/óvulo**

A razão pólen/óvulo (P/O) obtida variou de 968 ( $\pm 29$ ) grãos/ óvulo em *H. rosea* a 2.317 ( $\pm 323$ ) grãos/ óvulo em *H. belemii* (Tabela 6). De acordo com a classificação de Cruden (1977), todas as espécies avaliadas possuem reprodução preferencial do tipo alogamia facultativa. A alogamia é uma categoria de fecundação realizada entre gametas oriundos de flores de diferentes indivíduos (RICHARDS, 1997), permitindo a troca de material genético durante a fecundação, favorecendo a manutenção da diversidade e sobrevivência da espécie (SINGH; KUMAR; SINGH, 2023).

**Tabela 6.** Quantificação dos grãos de pólen e óvulos e razão pólen/ óvulo de sete espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae).

<b>Espécie</b>	<b>Número de Grãos de Pólen (P)</b>	<b>Número de óvulos (O)</b>	<b>P/O</b>
<i>H. amargosensis</i>	111.875 ± 3.750	95 ± 5	1.177 ± 53
<i>H. belemii</i>	222.500 ± 7.359	96 ± 12	2.317 ± 323
<i>H. capitata</i>	157.750 ± 5.560	85 ± 8	1.856 ± 194
<i>H. ituberaensis</i>	125.625 ± 6.884	119 ± 6	1.055 ± 70
<i>H. nidularioides</i>	116.875 ± 6.250	68 ± 13	1.718 ± 110
<i>H. rosea</i>	82.333 ± 6.666	80 ± 11	1.029 ± 79
<i>H. stellata</i>	80.452 ± 3.953	62 ± 3	1.297 ± 62
CV (%)	9,39	8,06	7,54

As contribuições genéticas de uma planta para a próxima geração estão inteiramente ligadas ao número de óvulos e grãos de pólen por ela produzidos (HARDER; JOHNSON, 2023). O sucesso da reprodução sexuada em uma espécie requer que o número de grãos de pólen esteja positivamente relacionado ao número de óvulos, além de ser suficiente para formar alta carga polínica no estigma, a fim de produzir um efeito de população de pólen, favorecendo a germinação dos tubos polínicos e fecundação dos óvulos (CRUDEN, 2000).

Pra Cruden (2000), a razão P/O é considerada baixa quando seu resultado é <1000:1, intermediária entre 1000:1 a 25.000:1 e alta > 25.000:1. Desse modo, todas as espécies de *Hohenbergia* são classificadas com intermediária razão P/O. As análises das médias de sementes (S) produzidas por meio da polinização natural confirmam a classificação de Cruden (2000), já que *H. amargosensis* (S = 83 ± 12), *H. belemii* (S = 79 ± 7), *H. capitata* (S = 85 ± 11), *H. ituberaensis* (S = 108 ± 13), *H. nidularioides* (S = 58 ± 9), *H. rosea* (S = 78 ± 16) e *H. stellata* (S = 53 ± 4) apresentaram fecundação em mais de 82% dos óvulos disponíveis.

O maior número de sementes produzidas favorece, com auxílio de determinados vetores, a distribuição da espécie por uma área mais ampla, aumentando a chance da população alcançar dimensões geográficas mais abrangentes e elevando as possibilidades de germinação (DEMINICIS et al., 2009).

### Visitantes florais

Nas 240 horas de observação diurnas (120 de cada espécie), foram registradas 5.140 visitas, sendo 4.277 em *H. amargosensis* e 863 em *H. stellata*, onde de 13 espécies observadas, três foram beija-flores e dez artrópodes (Tabela 7 e Figuras 8 e 9). Em *H. amargosensis* foram registradas oito espécies de polinizadores, uma de visitante e uma pilhadora. Já em *H. stellata*, quatro espécies polinizadoras e uma visitante (Tabela 7 e Figuras 8 e 9). Diversos estudos com visitantes florais de Bromeliaceae indicam uma variedade de espécies que atuam na polinização, incluindo aves, abelhas, borboletas, mariposas, morcegos e insetos (MARQUES; TAGLIATI; FARIA, 2015; JORGE et al., 2018; LENZI; PAGGI, 2019; ZAMBON et al., 2019; SILVA; BARBOSA; FARIA, 2022).

**Tabela 7.** Dados das observações dos visitantes florais de *H. amargosensis* e *H. stellata* em fragmento florestal no município de Ubaira e Amargosa, Bahia, respectivamente.

Família	Espécie	NVI	FRR (%)	PPF (s)	CO N	COMP
<i>Hohenbergia amargosensis</i>						
Trochilidae	<i>Chionomesa</i>	734	100	2,1 ± 0,6	CT	POL
	<i>fimbriata</i>					
Apidae	<i>Phaethornis pretrei</i>	153	60	2,2 ± 0,8	CT	POL
	<i>Bombus pauloensis</i>	1.286	100	11,4 ± 1	CT	POL
	<i>Eulaema cingulata</i>	26	100	7,3 ± 0,6	CT	POL
Halictidae	sp.	4	20	3,6 ± 0,7	AC	POL
Hesperiidae	sp.	10	40	3,2 ± 0,7	AS	POL
Nymphalidae	sp. 1	14	40	21,4 ± 1,4	AS	POL
	sp. 2	10	40	26,5 ± 2,1	AS	POL
Formicidae	sp. 1	1.124	100	179 ± 2,2	CT	PIL
	sp. 2	916	100	293 ± 2,6	CT	VIS
<i>Hohenbergia stellata</i>						
Trochilidae	<i>Chionomesa</i>	298	100	2,1 ± 0,3	CT	POL
	<i>fimbriata</i>					
	<i>Eupetomena macroura</i>	62	30	2,4 ± 1,2	AS	POL
Apidae	<i>Phaethornis pretrei</i>	143	70	2,2 ± 1,1	CT	POL
	<i>Apis mellifera</i>	325	50	12,8 ± 6,7	AS	POL
Chalcididae	sp.	35	20	4,5 ± 2,2	AC	VIS

NVI = número de visitas; FRR = frequência relativa; PPF = média da permanência do polinizador na flor (segundos); CON = Constância; COMP = Comportamento; CT = Constante; AS = Acessória; AC = Acidental; POL = Polinizador; VIS = Visitante; PIL = Pilhador.



**Figura 8.** Polinizadores de *Hohenbergia amargosensis* em fragmento florestal no município de Ubaíra, Bahia. A) *Phaethornis pretrei*; B-C) *Chionomesa fimbriata*; D) *Bombus pauloensis* E) *Eulaema cingulata*; F) Halictinae sp.; G-H) Nymphalidae sp. 1; I-J) Hesperíidae sp.; K) Nymphalidae sp. 2; L) Formicidae sp 2; M) Formicidae sp 1.



**Figura 9.** Polinizadores de *Hohenbergia stellata* em fragmento florestal no município de Cruz das Almas, Bahia. A) *Phaethornis pretrei*; B) *Eupetomena macroura*; C) *Chionomesa fimbriata*; D) a. *Apis mellifera*; b. *Chionomesa fimbriata*; E) *Apis mellifera*; F) Chalcididae sp.

Dentre os polinizadores de *H. amargosensis*, foram encontradas duas espécies de Nymphalidae, uma Hesperiiidae, uma Halictidae, duas Apidae [*Eulaema cingulata* (Fabricius, 1804) e *Bombus pauloensis* (Friese, 1913)] e duas Trochilidae [*Phaethornis pretrei* (Lesson & Delattre, 1839) e *Chionomesa fimbriata* (Gmelin, 1788)] (Figura 8 A-K). Dessas, os maiores números de visitas e frequência relativa foram observados em *B. pauloensis* (NVI = 1.286, FRR = 100%), *C. fimbriata* (NVI = 734, FRR = 100%) e *P. pretrei* (NVI = 153, FRR = 60%). Mesmo *E. cingulata* apresentando 100% de frequência relativa, o número de visitas foi de apenas 26, isso porque embora possua frequência diária de visitas, o número de presença na flor foi de apenas duas a quatro vezes por dia. Ainda assim, *B. pauloensis*, *C. fimbriata*, *P. pretrei* e *E. cingulata* são classificados como polinizadores constantes. As demais espécies de polinizadores de *H. amargosensis* foram classificadas como acessória ou acidental, de acordo com a constância das visitas (Tabela 8).

Em *H. stellata*, registrou-se como polinizadores, com número de visitas e frequência relativa, *C. fimbriata* (NVI = 298, FRR = 100%), *P. pretrei* (NVI = 143, FRR = 70%), *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (NVI = 325, FRR = 50%) e *Eupetomena macroura* (Gmelin, 1788) (NVI = 62, FRR = 30%) (Figura 9 A-E e Tabela 9). Apesar do número de visitas de *A. mellifera* ser superior ao de *C. fimbriata* e *P. preterir*, a frequência relativa foi inferior, devido ao menor número de dias de registro dessa espécie (Tabela 9).

Um visitante com comportamento muito esporádico possivelmente não será um polinizador efetivo, pois, para espécies autoincompatíveis, muitas vezes, a planta requer que seu polinizador visite várias flores da mesma espécie ou a mesma flor,

repetidas vezes (ALVES-DOS-SANTOS, 2016). Estudos indicam que mais espécies de Bromeliaceae são polinizadas por beija-flores do que por insetos (KESSLER; KRÖMER, 2000; SILVA; BARBOSA; FARIA, 2022), tendo como principal motivação a ocorrência de especiação (KESSLER; ABRAHAMCZYK; KRÖMER, 2020). Essa íntima interação ecológica, mediada pela relação trófica, reforça a importância das espécies de Bromeliaceae como um potencial provedor para as espécies de beija-flores (ROCHA, 2023).

A morfologia e cor das flores, principalmente, as brácteas florais avermelhadas, antese diurna, composição do néctar e ausência de cheiro e a forma tubular são características comuns para bromélias polinizadas por beija-flores (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979; ROCCA et al., 2013; RECH et al., 2014), porém esses não são fatores limitantes. Algumas abelhas da família Apidae também são muito bem adaptadas a flores tubulares, já que possuem aparelho bucal com língua longa para acessar o néctar (PNHEIRO et al., 2014). Estudos indicam a existência de sistemas de polinização combinados ou generalistas em Bromeliaceae (AGUILAR-RODRÍGUEZ et al., 2016), como o observado em *H. amargosensis* e *H. stellata*.

Um fator de grande importância e particularidade que ocorre em *H. stellata* foi a emissão de odor levemente adocicado há alguns metros de distância, durante o período de 8 às 11h, principalmente no pico da floração. A fragrância floral ou substâncias voláteis, são sintetizadas e liberadas por glândulas de odor, denominada de osmóforos, um tecido secretor encontrado na superfície epidérmica, responsáveis pela secreção de substâncias voláteis (TEIXEIRA; MARINHO; PAULINO, 2014). No caso da *H. stellata*, esses tricomas glandulares estão localizadas principalmente nas brácteas florais. Esses compostos desempenham um papel de grande importância no ciclo reprodutivo da planta, principalmente na atração de polinizadores (PICHERSKY; GERSHENZON, 2002).

Em estudo com *Aechmea bicolor* L. B. Sm., *A. bromeliifolia* Baker ex Benth. & Hook. f., *A. distichantha* Lem., *A. fasciata* Baker, *A. nudicaulis* Griseb., *Ananas macrodentes* E. Mor-ren, *A. comosus* (L.) Merr. var. *bracteatus* (Lindl.) Coppens & F. Leal, *A. comosus* (L.) Merr. var. *erectifolius* (L.B.Sm.) Coppens & F. Leal, *Alcantarea nahoumii* (Leme) J.R. Grant, *Vriesea friburgensis* Mez, *V. michaelii* W. Weber, *V. paraibica* Wawra e *V. simplex* Beer, Souza et al. (2016) identificaram a emissão de diversos compostos voláteis ao longo do período de abertura das flores, tendo como principais os pertencentes ao grupo dos terpenóides, que podem ser atrativos para polinizadores. No gênero *Hohenbergia*, a presença de odor nas flores já foi descrita em *H. lanata* Pereira & Moutinho (CAVALCANTE et al., 2021b) e *H. nidularioides* (CAVALCANTE et al., 2021a), utilizado inclusive como diagnóstico taxonômico. Dentre os polinizadores de *H. stellata*, *Apis mellifera* possui alta sensibilidade a substâncias voláteis, podendo ser também um atrativo floral da espécie (BRITO; TELLES; LUNAU, 2014).

Os dados dos visitantes florais indicaram que mesmo *H. amargosensis* e *H. stellata* estando em fragmentos florestais distintos e cidades com uma distância acima de 100 km foram observados polinizadores em comum, como no caso de *Chionomesa fimbriata* e *Phaethornis pretrei* (Tabela 7 e Figuras 8 e 9). Segundo as plataformas digitais Avibase e Wikiaves, essas espécies de beija-flores possuem ocorrência em todo o Brasil, com status de conservação pouco preocupante e pequenas variações em suas características por região, justificando a ocorrência em ambos os fragmentos (FERREIRA, 2024; LEPAGE, 2024a; b; SOUZA, 2024).

Houve registro de agente pilhador apenas em *H. amargosensis*, sendo uma espécie da família Formicidae (Figura 8M). Essa espécie pilhava as flores logo na

antese floral, perfurando-as na base da corola em busca de néctar, mantendo as atividades até o total fechamento da flor, com 1.124 visitas durante todo o período de observação. Essa espécie apresentou frequência relativa de 100%, sendo classificada como constante, com permanência aproximada de  $179 \pm 2,2$  segundos por flor (Tabela 8 e Figura 10). Visitantes florais considerados pilhadores são aqueles que aparecem à flor, com frequência ou não, e coletam recursos sem promover a polinização, causando ainda danos a estrutura floral, geralmente por perfurar a base por fora para roubar o néctar (ALVES-DOS-SANTOS et al., 2016; SILVA; BARBOSA; FARIA, 2022).

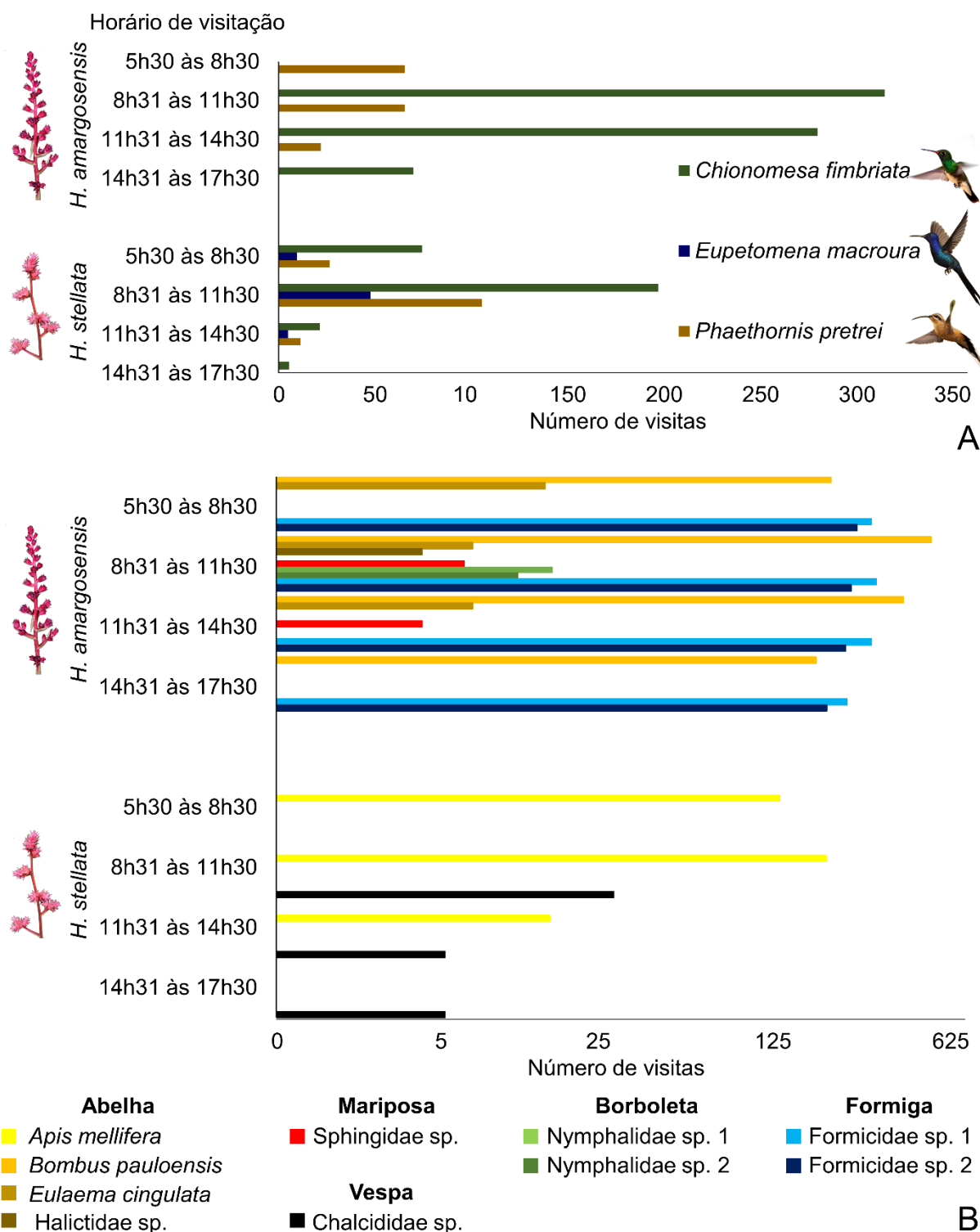
Tanto em *H. amargosensis* quanto *H. stellata*, foram observadas espécies com comportamento de visitantes florais. Em *H. amargosensis*, uma espécie da família Formicidae (Figura 8L) apenas pastoreava as flores e em alguns momentos ingeria gotículas de néctar que se formavam entre as pétalas ao longo do dia. Suas visitas iniciaram na antese floral e permaneceram até o total fechamento da flor, com 916 visitas, durante o período de observação. Sua frequência relativa foi de 100% com tempo de permanência na flor de  $293 \pm 2,6$  segundos (Tabela 8 e Figura 10).

A única espécie de visitante de *H. stellata* pertence à família Chalcididae (Figura 9F). Seu fluxo de visitas esteve concentrado entre 11 h e 17 h, apenas forrageando a área externa da flor, com 35 visitas durante o período de observação. Sua frequência relativa foi de 20 % com tempo de permanência na flor de  $4,5 \pm 2,2$  s. Essa espécie é classificada como acidental (Tabela 9 e Figura 10).

Estudos sobre biologia da polinização tem registrado ausência de grãos de pólen no corpo de espécies tanto de Formicidae quanto Chalcididae, classificando-as como visitantes florais, já que apenas forrageavam as flores, sem causar benefício ou dano (GONÇALVES et al., 2010; CESÁRIO; GAGLIANONE, 2013; GALITZKI et al., 2013). Em muitos estudos, a presença de formigas em Bromeliaceae ocorre principalmente para predação, interações de comensalismo e mutualismo (SCHMID et al., 2010; GONÇALVES et al., 2016; 2017; VICENTE; SILVA; IZZO, 2020; JORGE et al., 2021), sendo quase sempre associadas as folhas e ao fitotelmo das plantas, transitando de forma esporádica pelas flores e inflorescência (BENZING, 2000; LENZIN; MATOS; ORTH, 2006; SIQUEIRA-FILHO; LEME, 2006). Diferente do que a literatura aborda, a presença de formigas em *H. amargosensis* foi exclusivamente associada às flores e inflorescência, possivelmente devido ao néctar possuir alta concentração de açúcares.

Em relação ao horário de visitas dos polinizadores que foram constantes em *H. amargosensis* e seu tempo de permanência na flor (PPF). *Bombus pauloensis* iniciou suas atividades logo na antese até o total fechamento da flor, com PPF =  $11,4 \pm 1$  s, *C. fimbriata* apresentou intervalo de visitas entre 6h e 15h (PPF =  $2,1 \pm 0,6$  s), *P. pretrei* entre 6h e 13h (PPF =  $2,2 \pm 0,8$  s), *E. cingulata* entre 7h e 12h (PPF =  $7,3 \pm 0,6$  s). Já os horários de registro dos polinizadores e o tempo de permanência na flor de *H. stellata* foram: *C. fimbriata* entre 6h30 e 15h (PPF =  $2,1 \pm 0,3$  s), *P. pretrei* entre 6:40 e 13h (PPF =  $2,2s \pm 1,1$  s), *E. macroura* entre 06h e 12h (PPF =  $2,4s \pm 1,2$  s) e *A. mellifera* entre 7h e 11h40 (PPF =  $12,8 \pm 6,7$  s) (Figura 10). No geral, o pico de visitas em ambas as espécies ocorreu entre 8h30 e 11h30 (Figura 10).





**Figura 10.** Número de visitas florais registradas ao longo do dia em flores de *H. amargosensis* e *H. stellata* em intervalos de três horas em fragmentos florestais nos municípios de Ubaíra e Cruz das Almas, Bahia, respectivamente. A) Vertebrados; B) Artrópodos.

O pico de visitação registrada em *H. amargosensis* e *H. stellata* corrobora o encontrado em outros estudos de Bromeliaceae com floração diurna, nos quais os autores observaram alta atividade de espécies da família Trochilidae das 7 às 12 h,

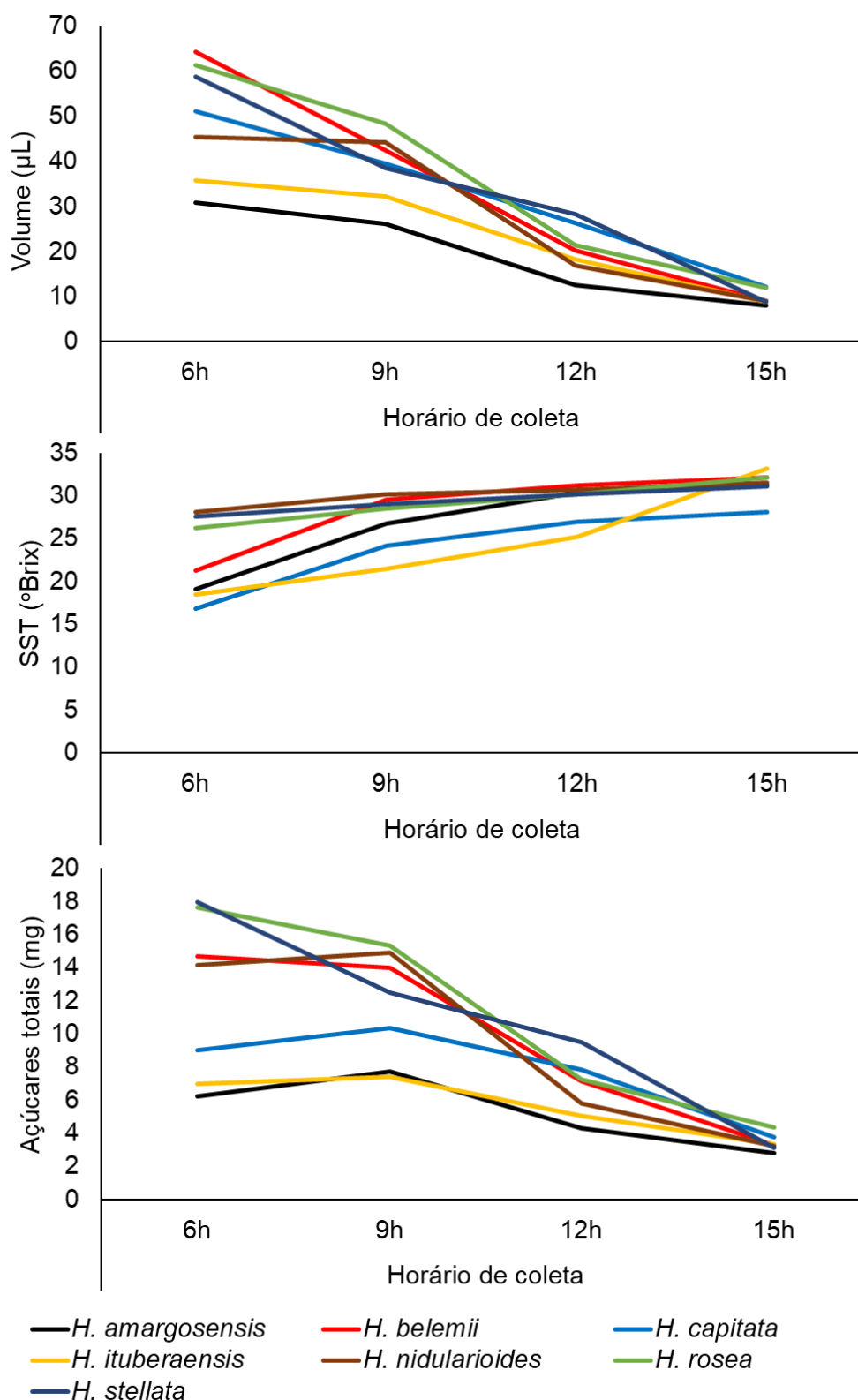
do gênero *Bombus* das 7 às 15 h, da ordem Lepidoptera a partir das 9 h e *Apis mellifera* das 7 às 11 h (JORGE et al., 2018; LENZI; PAGGI, 2019; ZAMBON et al., 2019).

Em nenhuma espécie registrada houve coleta ou consumo de grãos de pólen, apenas o néctar foi o recurso floral de interesse. Todo fluxo de grãos de pólen ocorreu quando eles se fixaram em partes do corpo dos polinizadores, que de forma unânime inseriam seu bico, aparelho bucal ou cabeça na corola da flor até alcançarem o néctar (Figuras 8 e 9). O néctar é a principal recompensa calórica da flor, composto por principalmente carboidratos, mas também pode ser encontrado vestígios de aminoácidos, antioxidantes, alcalóides, proteínas, lipídios, vitaminas e polissacarídeos, sendo desejado por quase todos os grupos de polinizadores (DAFNI, 1992; GÖTTLINGER et al., 2019).

## Néctar

No momento da antese floral das sete espécies estudadas, entre 5h40 e 6h, a produção de néctar esteve em seu maior volume, obtendo média por espécie igual a: *H. amargosensis*  $30,8 \pm 2,6 \mu\text{L}$ , *H. belemii*  $64,3 \pm 2,1 \mu\text{L}$ , *H. capitata*  $51,2 \pm 1,8 \mu\text{L}$ , *H. ituberaensis*  $35,8 \pm 1,6 \mu\text{L}$ , *H. nidularioides*  $45,4 \pm 1,1 \mu\text{L}$ , *H. rosea*  $61,3 \pm 1,8 \mu\text{L}$  e *H. stellata*  $58,8 \pm 2,7 \mu\text{L}$  (Figura 11). Nas coletas seguintes, durante o dia foi observada a diminuição do volume de néctar até atingir valores que variaram de  $8 \pm 1,4 \mu\text{L}$  em *H. amargosensis* a  $12,1 \pm 1,6 \mu\text{L}$  em *H. capitata* às 15h, chegando a valores próximos a  $1 \mu\text{L}$  para todas as espécies, às 6 h da manhã do dia seguinte (pós-antese). Nas coletas realizadas na pré-antese, às 18 h do dia anterior, o volume de néctar variou de  $2,2 \pm 1 \mu\text{L}$  em *H. ituberaensis* a  $6,2 \pm 1,6 \mu\text{L}$  em *H. belemii*, valores esses no qual impossibilitou a quantificação dos sólidos solúveis totais (SST).

O néctar, como um importante recurso floral de valor energético para muitas espécies animais, possui grande participação no estabelecimento das relações planta/polinizador (WILSON, 1983; PARACHNOWITSCH; MANSON; SLETVOLD, 2019). A variação na secreção desta solução pode ser observada em diferentes espécies de Bromeliaceae, seguindo o padrão de ter alto volume na antese e no decorrer do período em que a flor permanece aberta, declinar na quantidade produzida (AGUILAR-RODRÍGUEZ et al., 2014; MARQUES; TAGLIATI; FARIA, 2015; BASTOS et al., 2017; LAVOR et al., 2017; LENZI; PAGGI, 2019; SILVA; BARBOSA; FARIA, 2022).



**Figura 11.** Volume ( $\mu\text{L}$ ), sólidos solúveis totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) e açúcares totais (mg) do néctar coletado em flores durante o período de abertura da flor de diferentes espécies de Bromeliaceae.

Diferente do volume, os sólidos solúveis totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) do néctar seguiu em leve crescimento nos três horários posterior à primeira coleta, com variação inicial, às 6 h, de  $19,12 \pm 1,4$   $^{\circ}\text{Brix}$  em *H. amargosensis* a  $28,12 \pm 0,7$   $^{\circ}\text{Brix}$  em *H. nidularioides* e

variação final, às 15 h, de  $28,12 \pm 1,3$  °Brix em *H. capitata* a  $33,12 \pm 1,4$  °Brix em *H. ituberaensis* (Figura 11). Nas coletas de pré-antese e pós-antese não foi possível obter valor de SST, por não haver volume suficiente para a medição no refratômetro.

A quantidade de açúcares totais seguiu o mesmo desenvolvimento de curva do volume, iniciando com uma variação de  $6,25 \pm 0,6$  mg em *H. amargosensis* a  $17,96 \pm 0,7$  mg em *H. stellata* e finalizando a coleta com  $2,81 \pm 0,5$  mg em *H. amargosensis* e  $4,36 \pm 0,6$  mg em *H. rosea*. Observou-se que na coleta das 9 h, em *H. amargosensis*, *H. capitata*, *H. ituberaensis* e *H. nidularioides* houve um pequeno aumento na quantidade de açúcares totais, voltando a seguir o fluxo do volume nas coletas seguintes (Figura 11).

Foram observadas altas correlações entre a presença de visitantes florais (beija-flores, abelhas, borboletas, vespas e formigas) e concentração de açúcar ( $r = 0,8892^{**}$  *H. amargosensis* e  $r = 0,8235^{**}$  *H. stellata*). Com relação ao horário de coleta, houve correlação positiva significativa com a concentração de açúcar ( $r = 0,7982^{**}$  *H. amargosensis* e  $r = 0,8112^{**}$  *H. stellata*) e volume de néctar ( $r = 0,7985^{**}$  *H. amargosensis* e  $r = 0,7625^{**}$  *H. stellata*).

Entre as variáveis do néctar independente das espécies, o volume do néctar e açúcares totais possui uma correlação altamente significativa e positiva ( $r = 0,9178^{**}$ ), volume do néctar e sólidos solúveis totais uma correlação negativa ( $r = -0,7892^{**}$ ) bem como, sólidos solúveis totais e açúcares totais ( $r = -0,8125^{**}$ ). Segundo Dafni, 1992, quanto maior a concentração de açúcar no néctar, maior a sua viscosidade. Estudos indicam que polinizadores da ordem Lepidoptera suportam apenas néctar com menor viscosidade, podendo em alguns casos diluí-lo com sua saliva para em seguida realizar a ingestão (OLIVEIRA et al., 2014). Provavelmente, este pode ser o motivo que levou *H. stellata* a não receber visitas de Lepidoptera, já que o açúcar total em seu néctar é maior que no néctar de *H. amargosensis*. Por outro lado, espécies da família Apidae não encontram impedimentos em flores com néctar mais viscosos (PINHEIRO et al., 2014) e aves da família Trochilidae preferem visitar flores com maior volume de néctar (FISCHER; ARAÚJO; GONÇALVES, 2014). Esses fatores podem ter contribuído na definição do horário e fluxo das visitas de abelhas e beija-flores nas plantas de *H. amargosensis* e *H. stellata*.

Quando comparados os dados obtidos por meio das coletas de néctar de *H. amargosensis* e *H. stellata* com os horários de preferência dos visitantes florais, observa-se que em *H. amargosensis* o período de pico das visitas coincide com os maiores níveis de volume e açúcares totais. Em *H. stellata*, apesar de existir uma queda no volume e açúcares totais, esses valores são superiores ao encontrado em *H. amargosensis* no mesmo horário. Em ambas as espécies, houve diminuição na frequência de busca ao recurso à medida que o volume de néctar e açúcares totais decaíram.

## CONCLUSÃO

*Hohenbergia amargosensis* quanto *H. stellata* possuem ciclo de fenofase vegetativa com duração de dois anos, sendo que *H. amargosensis* possui floração supra-anual, a cada dois anos e *H. stellata* apresenta floração anual.

Ambas as espécies se reproduzem de forma assexuada e sexuada, possuem sazonalidade em suas fenofases, com exceção da emissão de novas folhas em *H. stellata*, e apresentam alta correlação das fenofases com a temperatura e precipitação, exceto a brotação de *H. amargosensis* com a temperatura.

*Hohenbergia capitata* e *H. nidularioides* são espécies parcialmente autocompatíveis, as demais espécies do gênero apresentaram autoincompatibilidade, sendo que todas reproduzem-se por polinização cruzada, com maior número de produção de sementes na polinização natural. Agamospermia não foi observada em nenhuma espécie.

As principais barreiras reprodutivas identificadas foram: falta de deposição de grãos de pólen na superfície do estigma; inibição da germinação dos grãos de pólen no primeiro e segundo terço do estilete; enovelamento dos tubos polínicos no segundo terço do estilete; e deposição reticulada de calose no tubo polínico.

A antese floral das sete espécies acontece das 5h40 às 6h, com maior liberação de grãos de pólen, néctar e concentração de açúcar a partir desse horário, seguindo um declínio durante o período de abertura.

Foram registrados em *H. amargosensis* oito espécies de polinizadores, um de visitante e um pilhador e em *H. stellata*, quatro espécies de polinizadores e um visitante. Os principais agentes polinizadores são os pertencentes as família Trochilidae e Apidae.

## REFERÊNCIAS

- AGUILAR-RODRÍGUEZ, P. A.; KRÖMER, T.; GARCÍA-FRANCO, J. G.; MACSWINEY, G. M. C. From dusk till dawn: nocturnal and diurnal pollination in the epiphyte *Tillandsia heterophylla* (Bromeliaceae). **Plant Biology**, Berlin, New York, v. 18, p. 37–45, 2016.
- AGUILAR-RODRÍGUEZ, P. A.; MACSWINEY, G. M. C.; KRÖMER, T.; GARCÍA-FRANCO, J. G.; KNAUER, A.; KESSLER, M. First record of bat-pollination in the species-rich genus *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Annals of Botany**, Oxford, v. 113, p. 1047-1055, 2014.
- AGUILAR-RODRÍGUEZ, P. A.; TSCHAPKA, M.; GARCÍA-FRANCO, J. G.; KRÖMER, T.; MACSWINEY, M. C. Bromeliads going batty: pollinator partitioning among sympatric chiropterophilous Bromeliaceae. **AoB Plants**, Oxford, v. 11, p. 1-19, 2019.
- ALBUQUERQUE, N. S. L.; MILET-PINHEIRO, P.; CRUZ, D. D.; PIMENTEL, G. M. S.; SOUSA, A. C.; CARNEIRO, A. M.; MACHADO, I. C. Phenology, abundance and efficiency of pollinators drive the reproductive success of *Sarcoglottis acaulis* (Orchidaceae) at the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 36, p. 1-9, 2022
- ALVES-DOS-SANTOS, I.; SILVA, C. I.; PINHEIRO, M.; KLEINERT, A. M. P. Quando um visitante floral é um polinizador? **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 2, p. 295-307, 2016.
- AUGSPURGER, C.K. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six neotropical shrubs. **Biotropica**, Hoboken, v. 15, n. 4, p. 257-267, 1983.
- AZUAJE, R. R. A.; NARANJO, M. E. Biología floral de *Pitcairnia nubigena* (Bromeliaceae) en una selva nublada andina: II. Fenología y disponibilidad de néctar para los visitantes florales. **Ecotrópicos**, Venezuela, v. 27, n.1, 2014.
- BARRET, S. C. H. 'A most complex marriage arrangement': recent advances on heterostyly and unresolved questions. **New Phytologist**, Hoboken, v. 224, n. 3, p. 1051-1067, 2019.

- BARRET, S. C. H. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. In: S. C. H. BARRETT. **Evolution and function of heterostyly**. Berlin: Springer-Verlag, 1992. pp. 1-24.
- BASTOS, M. J. S. M.; BASTOS, L. P.; SOUZA, E. H.; SOARES, T. L.; MORAIS, D. V.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C. Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, Alta Floresta, v. 31, p. 665-676, 2017.
- BENCKE, C. S. C.; MORELLATO, L. P. C. Estudo Comparativo da fenologia de nove espécies arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulos, v. 25, n. 2, p. 237-248, 2002.
- BENZING, D.H. **Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation**. Cambridge University Press, Cambridge. 2000. 690p.
- BERNINI, E. Monitoramento do ecossistema manguezal: fenologia reprodutiva. In: TURRA, A.; DENADAI, M.R. (Orgs.). **Protocolos para o monitoramento de habitats bentônicos costeiros – Rede de Monitoramento de Habitat Bentônicos Costeiros – ReBentos**. São Paulo: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 2015, p. 81-86.
- BITENCOURT, C.; RAPINI, A.; DAMASCENA, L. S.; MARCO JUNIOR, P. The worrying future of the endemic flora of a tropical mountain range under climate change. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, Amsterdam, v. 218, p. 1-10, 2016.
- BOLTEN, A. B.; FEINSINGER, P.; BAKER, H. G.; BAKER, I. On the calculation of sugar concentration in flower néctar. **Oecologia**, Heidelberg, v. 41, p. 301-304, 1979.
- BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. **Portaria MMA nº 148, de 07 de junho de 2022**. DOU Nº 108 Seção 1, p.74, 08 de junho de 2022.
- BRITO, V.; TELLES, F.; LUNAU, K. Ecologia cognitiva da polinização. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRO, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização**. Editora Projeto Cultural. Rio de Janeiro. 2014.
- CAPUCHO, L. C.; DALCOLMO, S.; FORMIGONI, T. D. H.; SILVA, A. G. D. Bromélias e beija-flores: um modelo observacional para testar hipóteses sobre correlações e adaptações morfológicas recíprocas. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 58, p. 49-58, 2007.
- CASCANTE-MARÍN, A.; NÚÑEZ-HIDALGO, S. A Review of Breeding Systems in the Pineapple Family (Bromeliaceae, Poales). **Botanical Review**, New York, v. 89, p. 308–329, 2023.
- CASCANTE-MARÍN, A.; TREJOS, C.; ALVARADO, R. Association between rainfall seasonality and the flowering of epiphytic plants in a Neotropical montane forest. **Biotropica**, Hoboken, v. 49, n. 6, p. 912-920, 2017.
- CAVALCANTE, B. P.; SILVA, K. R.; PEREIRA, M. A.; SOUZA, E. H.; VERSIEUX, L. M.; MARTINELLI, A. P. Establishment of the *Hohenbergia capitata* complex (Bromeliaceae) with notes on leaf anatomy and description of a new endangered species. **Phytotaxa**, Auckland, v. 518, n. 3, p.119-126, 2021a.
- CAVALCANTE, B. P.; SOUZA, E. H.; VERSIEUX, L. M.; MARTINELLI, A. P. Taxonomy of *Hohenbergia lanata* Pereira & Moutinho, new collections with an

amendment to its description. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 4, p. 1-9, 2021b.

CAVALCANTE, B. P.; SOUZA, E. H.; WILLIAMS, J. H.; VERSIEUX, L. M. Reproductive systems and post-pollination barriers between two closely related eubromelioids (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest of Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 192, n. 4, p. 828-839, 2020b.

CAVALCANTE, B. P.; SOUZA, E.H.; VERSIEUX, L.M.; MARTINELLI, A. P. *Hohenbergia ituberaensis* (Bromeliaceae): a new white-flowered species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v.439, n. 2, p. 119-126, 2020a.

CERVANTES, S. E.; GRAHAM, E. A.; ANDRADE, J. L. Light microhabitats, growth and photosynthesis of an epiphytic bromeliad in a tropical dry forest. **Plant Ecology**, Oxford, v. 179, n.1, p. 107-118, 2005.

CESÁRIO, L. F.; GAGLIANONE, M. C. polinizadores de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em formações vegetacionais de restinga no norte do estado do Rio de Janeiro. **Boscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 458-467, 2013.

CHANG, C-T.; WANG, H-C.; HUANG, C-Y. Impacts of vegetation onset time on the net primary productivity in a mountainous island in Pacific Asia. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 8, n. 4, p. 1-11, 2013.

CHARLESWORTH, D. Evolution of plant breeding systems. **Current Biology**, Cambridge, v. 16, n. 17, p. R726-R735, 2006.

COGLIATTI-CARVALHO, L.; ROCHA-PESSÔA, T. C.; NUNES-FREITAS, A. F.; ROCHA, C. F. D. Volume de água armazenado no tanque de bromélias, em restingas da costa brasileira. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 24, n. 1, p. 84-95, 2010.

COUTINHO NETO, A. A.; SILVA, M. F.; SILVA, M. M. A auxina e seus efeitos em orquídeas e bromélias. In: LOPES, A. S.; CRUZ, B. S.; SILVEIRA, E. R.; CACERES, I. H.; BRITO, J. O. F.; SILVA, L. G. L.; FURLAN, C. M. **Botânica no inverno 2023**. São Paulo: Instituto de Biociências, USP, 2023.

CRUDEN, R. W. Pollen grains: why so many? **Plant Systematics and Evolution** v.222, p. 143-165, 2000.

CRUDEN. R. W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution**, Oxford, v.3, p.1-46, 1977.

CRUZ, R. P.; FEDERIZZI, L. C.; MILACH, S. C. K. A apomixia no melhoramento de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 155-161, 1998.

CUNHA, G. A. P. Fisiologia da floração do abacaxizeiro. In: CARVALHO, C. A. L.; DANTAS, A. C. V. L.; PEREIRA, F. A. C.; SOARES, A. C. F.; MELO FILHO, J. F.; OLIVEIRA, G. J. C. **Tópicos em ciências agrárias**. Cruz das Almas: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2009. pp. 55-76.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach** (the practical approach series). New York: University Press, 1992. 250p.

DEMNICIS, B. B.; VIEIRA, H. D.; ARAÚJO, S. A. C.; JARDIM, J. G.; PÁDUA, F. T.; CHAMBELA NETO, A. Dispersão natural de sementes: importância, classificação e sua dinâmica nas pastagens tropicais. **Archivos de zootecnia**, Cordoba, v. 58, p. 35-58, 2009.

EKHOLM, A.; TACK, A. J. M.; BOLMGREN, K.; ROSLIN, T. The forgotten season: the impact of autumn phenology on a specialist insect herbivore community on oak. **Ecological Entomology**, West Sussex v. 44, n. 3, p. 425-435, 2019.

FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **The Principles of Pollination Ecology**. 3th. New York: Pergamon press. 1979.

FERREIRA, M. Beija-flor-de-garganta-verde. **Wikiaves**, observação de aves e ciência cidadã para todos. 2024. Disponível em: <https://www.wikiaves.com.br/wiki/rabo-branco-acanelado>. Acesso: 05 fev. 2024.

FISCHER, E.; ARAUJO, A. C.; GONÇALVES, F. Polinização por vertebrados. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014. pp. 311-326.

FREITAS L. S.; MOREIRA, L. M.; AVILA JUNIOR, R. S.; FELESTRINO, É. B.; DEMARCO, D.; SOUSA, H. C.; RIBEIRO, S. P. Reproductive phenology and floral visitors of a *Langsdorffia hypogaea* (Balanophoraceae) population in Brazil. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, Amsterdã, v. 233, p. 51-57, 2017.

GALITZKI, E.L.; CERETO, C.E.; SCHERER, K.Z.; LOPES, B.C.; CASTELLANI, T.T. Formigas visitantes de *Actinocephalus polyanthus* (Bong.) Sano (Eriocaulaceae). **Biotemas**, Florianópolis, v. 26, n. 4, p.75-83, 2013.

GANGULY, S.; BARUA, D. Inter-morph pollen flow and reproductive success in a self-compatible species with stigma-height dimorphism: the influence of herkogamy and reciprocity. **Plant Biology**, Cambridge, v. 23, n. 6, p. 939-946, 2021.

GARDNER, C. S. Preliminary classification of *Tillandsia* based on floral characters. **Selbyana**, Sarasota, n. 9, p.130-146, 1986.

GENTRY, A. H. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. **Biotropica**, Hoboken, v. 6, p. 48-64, 1974

GILMARTIN, A. J.; BROWN, Gregory K. Cleistogamy in *Tillandsia capillaris* (Bromeliaceae). **Biotropica**, Washington, v. 17, n. 3, p. 256-259, 1985.

GIRI, G. S.; PATEL, C.; DEEKSHA, M. G.; KISHOR, K. Climate change and pollinators and conservational aspects of pollinators. In: TANDA, A. S. **Advances in insect pollination technology in sustainable agriculture**. New Delhi: I. K. International. 2023. p. 2065-2084.

GONÇALVES, A. Z.; OLIVEIRA, R. S.; OLIVEIRA, P. S.; ROMERO, G. Q. Species-specific effects of ant inhabitants on bromeliad nutrition. **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 3, p. 1-12, 2016.

GONÇALVES, A. Z.; SRIVASTAVA, D. S.; OLIVEIRA, P. S.; ROMERO, G. Q. Effects of predatory ants within and across ecosystems in bromeliad food webs. **Journal of Animal Ecology**, London, v. 86, n. 4, p. 790-799, 2017.

GONÇALVES, C.B.S.; SILVA, C.B.; CÂNDIDO, A.C.S. Visitantes florais de *Inga edulis* (Fabaceae - Mimosoideae), na região do Pantanal - Passo do Lontra, **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 15-22, 2010.

GÖTTLINGER, T., SCHWERDTFEGGER, M., TIEDGE, K., LOHAUS, G. What Do Nectarivorous Bats Like? Nectar Composition in Bromeliaceae with Special



Emphasis on Bat-Pollinated Species. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.10. 2019.

GOUVEIA, T. M. Z. DE M. E; PINHEIRO, F. Experimentos de cruzamentos recíprocos como ferramenta para avaliar o isolamento reprodutivo numa zona de hibridação natural da família Orchidaceae Juss. **Revista da Biologia**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 17–23, jul. 2015.

GRAEFF, V.; MÜLLER, A.; JUNGES, F.; BAUER, D.; OLIVEIRA, M. T.; SCHMITT, J. L. Climatic triggers of the phenophases of *Elaphoglossum macrophyllum* in Southern Brazil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 74, p. 1-10, 2023.

GUOLLO, K.; KOSERA NETO, C.; ROSA, V.; GARAY, I. A.; WAGNER JUNIOR, A.; ROCHA, M. A. M. Floral, reproductive, and pollination biology of *Eugenia myrcianthes* Nied. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 15, p. 1-8, 2023.

HARDER, L. D.; JOHNSON, S. D. Beyond pollen:ovule ratios: Evolutionary consequences of pollinator dependence and pollination efficiency for pollen and ovule production in angiosperms. **American Journal of Botany**, USA, v. 110, n. 6, p. e16177, 2023.

HIJMANS, R. J.; WILLIAMS, E.; VENNES, C. Geosphere: Spherical Trigonometry. **R package version 1.5-10**. Package Geosphere, 2019.

HOOD, G. R.; ZHANG, L.; HU, E. G.; OTT, J. R.; EGAN, S. P. Cascading reproductive isolation: Plant phenology drives temporal isolation among populations of a host-specific herbivore. **International Journal of Organic Evolution**, Oxford, v. 73, n. 3, p. 554-568, 2019.

IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2020 [online], 2020. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso: 06 jan. 2024.

JACKMAN, S. *pscl: Classes and Methods for R Developed in the Political Science Computational Laboratory*. **R package version 1.5.5.1**. University of Sydney, Sydney, 2020.

JORGE, J. S.; ROCHA, L. H. S.; JORGE, J. P. S.; SOUSA, P. H. P.; SANTOS, R. L.; FREIRE, E. M. X. Floral visitors and potential pollinators of a rupicolous bromeliad (Pitcairnioideae) in the Brazilian semiarid. **Neotropical Biology and Conservation**, Sofia, v. 13, n. 2, p.101-110, 2018.

JORGE, J. S.; SILVA-JORGE, J. P.; SANTOS, R. L.; CALIMAN, A.; FREIRE, E. M. X. Association of *Strymon serapio* (Lycaenidae: Theclinae) and *Castnia invaria* (Castniidae: Castniini) with the Habitat-Forming Bromeliad *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae: Pitcairnioideae) in the Brazilian Semiarid Caatinga. **The Journal of the Lepidopterists' Society**, Cambridge, v. 75, n. 1, p. 37-43, 2021.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Niwot: University Press of Colorado, 1993, 583 p.

KEBEDE, M.; ISOTALO, J. Flowering and fruiting phenology and floral visitation of four native tree species in the remnant moist Afromontane forest of Wondo Genet, south central Ethiopia. **Tropical Ecology**, Cambridge v. 57, n. 2, p.299-311, 2016.

KESSLER, M.; ABRAHAMCZYK, S.; KRÖMER, T. The role of hummingbirds in the evolution and diversification of Bromeliaceae: unsupported claims and untested hypotheses. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 192, n. 4, p. 592-608, 2020.

- KESSLER, M.; KRÖMER, T. Patterns and ecological correlates of pollination modes among bromeliad communities of Andean Forests in Bolivia. **Plant Biology**, New York, v. 2, p. 659–669, 2000.
- KLUGE, M.; TING, J. P. **Crassulacean acid metabolism**. Analysis of Ecological Adaptation. New York: Springer – Verlag Berlin – Heidelberg, 1978. 209p.
- KREMEN, C.; WILLIAMS, N. M.; AIZEN, M. A.; GEMMIL-HERREN, B.; LEBUHN, G.; MINCKLEY, R.; PACKER, L.; POTTS, S. G.; ROULSTON, T.; STEFFAN-DEWENTER, I.; VÁZQUEZ, P.; WIFREE, R.; ADAMS, L.; CRONE, E. E.; GREENLEAF, S. S.; KEIT, T. H.; KLEIN, A. M.; REGETZ, J.; RICKETTS, T. H. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. **Ecology letters**, Oxford, v. 10, p. 199- 314, 2007.
- LAVOR, P.; JACOBI, C. M.; CARMO, F. F.; VERSIEUX, L. M. Notes on the floral biology, seed morphology and post-seminal development of *Vriesea minarum* L.B.Sm., an endangered Bromeliaceae of Southeastern Brazil. **Journal Bromeliad Society**, Orlando, v. 66, n. 2, p. 87-101, 2017.
- LENZI, M.; PAGGI, G. M. Reproductive biology of *Dyckia excelsa* Leme (Bromeliaceae): a xerophyte species from ironstone outcrops in central-western Brazil. **Plant Species Biology**, Durham, v. 35, n.1, p. 97-108, 2019.
- LENZIN, M.; MATOS, J. Z.; ORTH, A. I. Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasílica**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 487–500, 2006.
- LEPAGE, D. *Chionomesa fimbriata* (Gmelin, JF 1788). **Avibase**, the World Bird Database. 2024. Disponível em: <https://biodiversitylibrary.org/page/2897093>. Acesso: 05 fev. 2024a.
- LEPAGE, D. *Phaethornis pretrei* (Lesson, RP; Delattre, PA 1839). **Avibase**, the World Bird Database. 2024b. Disponível em: <https://biodiversitylibrary.org/page/2299168>. Acesso: 05 fev. 2024.
- LIETH, H. Introduction to phenology and the modelling of seasonality. *In*: LIETH, H. **Phenology and seasonality modeling**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. 1974. pp. 3-5.
- LIMA, R. C.; NEPOMUCENO, I. T. G.; FERREIRA-JÚNIOR, R.; SILVA, R. R. V. Phenology of tree species in an open Ombrophilous Forest: bases for silviculture and conservation. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 29, n.1, p. 1-9, 2022.
- LÓPEZ-LÓPEZ, J. I.; PARRA-TABLA, V.; MODRAGÓN, D. Variation in the flowering phenology of an epiphytic bromeliad along an elevational gradient. **Acta Biológica Colombiana**, Bogotá, v. 26, n. 1, p. 42-53, 2021.
- MACHADO, C. G.; SEMIR, J. Fenologia da floração e biologia floral de bromeliáceas ornitófilas de uma área da Mata Atlântica do Sudeste brasileiro. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n.1, p. 163-174, 2006.
- MAGALHÃES, A. F. P.; MARUYAMA, P. K.; TAVARES, L. A. F.; MARTINS, R. L. The relative importance of hummingbirds as pollinators in two bromeliads with contrasting floral specializations and breeding systems. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 188, n. 3, p. 316-326, 2018.

- MARQUES, A. R.; LEMOS-FILHO, J. D. Fenologia reprodutiva de espécies de bromélias na Serra da Piedade, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 22, n. 2, p. 417-424, 2008.
- MARQUES, J. S.; TAGLIATI, M. C.; FARIA, A. P. G. Diurnal versus nocturnal pollination success in *Billbergia horrida* Regel (Bromeliaceae) and the first record of chiropterophily for the genus. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 2, p. 835-842, 2015.
- MARTIN, F. W. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain technology**, Londres, v. 34, n. 3, p. 125-128, 1959.
- MARTINELLI, G. Biologia reprodutiva de Bromeliaceae na Reserva Ecológica de Macaé de Cima. In: LIMA, H. C.; GUEDES-BRUNI, R. R. **Serra de Macaé de Cima: diversidade florística e conservação em Mata Atlântica**. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 1997. pp. 213-250.
- MATALLANA, G.; GODINHO, M. A. S.; GUILHERME, F. A. G.; BELISARIO, M.; COSER, T. S.; WENDT, T. Breeding systems of Bromeliaceae species: Evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. **Plant Systematics and Evolution**, Viena, v.289, p. 57-65, 2010.
- MEDINA, E. Aspectos ecofisiológicos de plantas CAM en los trópicos. **Revista de Biología Tropical**, Costa Rica, v. 35, n. 1, p. 55-70, 1987.
- MEKERS, O.; DE PROFT, M. Prevention of unwanted flowering of ornamental Bromeliaceae by growth regulating chemicals. **Acta Horticulturae**, Hamburgo, v. 137, p. 217-224, 1983.
- MENEZES, I. S.; SANTOS, M. G. M.; CERQUEIRA, C. O.; COUTO-SANTOS, A. P. L.; NEVES, S. P. S.; ROSSATTO, D. R.; MIRANDA, L. A. P.; FUNCH, L. S. Fruiting phenology in *Aspidosperma discolor* and implications for seed dispersal and population distribution. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 75, p. 1-9, 2024.
- MORELLATO, L.P.C.; ALBERTI, L.F.; HUDSON, I.L. Applications of circular statistics in plant phenology: a case studies approach. In: KEATLEY, M.; HUDSON, I.L. **Phenological Research: Methods for Environmental and Climate Change Analysis**. New York: Springer. 2010. p. 357-371.
- MORELLATO, L.P.C.; TALORA, D.C.; TAKAHASI, A.; BENCKE, C.C.; ROMERA, E.C.; ZIPPARRO, V.B. Phenology of Atlantic rain forest trees: A comparative study. **Biotropica**, Hoboken, v.32, p.811-823, 2000.
- MOTA, S. S.; FARO, I. A. M.; CAVALCANTE, B. P. C.; SOUZA, F. V. D.; AONA, L. Y. S.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, E. H. Reproductive systems and hybridization of *Lymania* species (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil threatened with extinction. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 322, p. 1-11, 2023.
- MOTA, S. S.; FARO, I. A. M.; SOARES, T. L.; ALMEIDA, P. S.; SOUZA, F. V. D.; AONA, L. Y. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROSSI, M. L.; SOUZA, E. H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 338, p. 1-10, 2024.
- NARA, A. K.; WEBBER, A. C. Biologia floral e polinização de *Aechmea beeriana* (Bromeliaceae) em vegetação de baixio na amazônia central. **Acta Amazônica**, Manaus, v.32, n.4, p. 571-588, 2002.

- NELDER, J. A.; WEDDERBURN, R. W. M. Generalized Linear Models. **Journal of the Royal Statistical Society**, Oxford, v. 135, n. 3, p. 370-384, 1972.
- NEWSTROM, L.E.; FRANKIE, G.W.; BAKER, H.G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in Lowlands tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, Hoboken, v. 26, p. 141-159, 1994.
- NUCCI, M.; ALVES-JUNIOR, A.V. Behavior and diversity of floral visitors to *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae). **Revista Colombiana de Entomologia**, Cali, v. 43, p. 106-112, 2017.
- OLIVEIRA, J. D. S.; LEMOS, E. E. P.; REZENDE, L. P.; SANTOS, E. F.; SILVA, R. B.; GALLO, C. M. Morphoanatomy, floral biology and reproductive phenology of Cambuí (*Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd.) O.Berg.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 43, n. 6, 2021.
- OLIVEIRA, R.; DUARTE JUNIOR, J. A.; RECH, A. R.; AVILA JUNIOR, R. S. Polinização por lepidópteros. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014. pp. 235-258.
- OPEDAL, Ø. H. Herkogamy, a principal functional trait of plant reproductive biology. **International Journal of Plant Sciences**, Illinois, v. 179, n. 9, p. 677-687, 2018.
- PARACHNOWITSCH, A. L.; MANSON, J. S.; SLETVOLD, N. Evolutionary ecology of nectar. **Annals of Botany**, Oxford, v. 20, p. 1–15, 2019.
- PEREIRA, F. R. L.; QUIRINO, Z. G. M. Fenologia e biologia floral de *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae) na caatinga paraibana. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 4, p. 835-844, 2008.
- PIAO, S.; LIU, Q.; CHEN, A.; JANSSENS, I. A.; FU, Y.; DAI, J.; LIU, L.; LIAN, X.; SHEN, M.; ZHU, X. Plant phenology and global climate change: Current progresses and challenges. **Global Change Biology**, Oxford, v. 25, n. 6, p.1922-1940, 2019.
- PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, Stuttgart, v. 5, p. 237-243, 2002.
- PINHEIRO, M.; GAGLIANONE, M. C.; NUNES, C. E. P.; SIGRIST, M. R.; SANTOS, I. A. Polinização por abelhas. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014. pp. 205-234.
- PISCINA-CHALÉ, M.; RAMÍREZ-MORILLO, I.; FERNÁNDEZ-CONCHA, G. C.; HORNUNG-LEONI, C. T. Reproductive biology of *Aechmea bracteata* (Sw.) Griseb. (Bromelioideae: Bromeliaceae). **Plant biology**, Berlim, v. 20, n.1, p. 113-120.
- POLATTO, L. P. Reprodução de plantas em um ecótono floresta Atlântica-Cerradão: dependência de agentes polinizadores. **Biodiversidade**, Rondonópolis, v. 19, n. 1, 2020.
- POTTS, S. G.; PETANIDOU, T.; ROBERTS, S.; O'TOOLE, C.; HULBERT, A.; WILLMER, P. Plant-pollinator biodiversity and pollination services in a complex Mediterranean landscape. **Biological Conservation**, Essex, v.129, p. 519-529, 2006.

PUGAS, R.M.; PAZ, J. R. L.; NEVES, E. L.; PIGOZZO, C. M. *Himatanthus bracteatus* (A. DC.) Woodson (Apocynaceae): phenology, morphology, and floral biology of a species endemic to the Atlantic Forest. **Hoehnea**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 405-412, 2018.

R CORE TEAM. **R**: A Language and environment for statistical computing (4.2.3). R Foundation for Statistical Computing, Vienna. 2023.

RAD 2022. **Relatório Anual de Desmatamento 2022**. São Paulo: MapBiomas, 2023. 125 p.

RAMIREZ, N.G.C.; HOCHE, O; SERES, A.; BRITO, V. Biología floral do una comunidad arbustiva tropical en la Guayana Venezoelana. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Louis, v. 7, n. 2, p. 383-397, 1990.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. E. **Biologia vegetal**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 876p.

RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRO, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização**. Editora Projeto Cultural. Rio de Janeiro. 2014.

RICHARDS, A. J. **Plant Breeding Systems**. 2nd ed. London: Chapman and Hall, 1997.

RICHARDSON, A.D.; ANDY BLACK, T.; CIAIS, P.; DELBART, N.; FRIEDL, M. A. GOBRON, N.; HOLLINGE, D. Y.; KUTSCH, W. L.; LONGDOZ, B.; LUYSSAERT, S.; MIGLIAVACCA, M.; MONTAGNANI, L.; MUNGER, J. W.; MOORS, E.; PIAO, S.; REBMANN, C.; REICHSTEIN, M.; SAIGUSA, N.; TOMELLERI, E.; VARGAS, R.; VARLAGINET, A. Influence of spring and autumn phenological transitions on forest ecosystem productivity. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 365, n.1555, p. 3227-3246, 2010.

RIESEBERG, L. H.; WILLIS, J. H. Plant speciation. **Science**, Illinois, v. 317, n. 5840, p. 910-914, 2007.

RÍOS, L. D.; CASCANTE-MARÍN, A. Alta capacidad de autofecundación y baja visitación de polinizadores en la epífita polinizada por colibríes *Pitcairnia heterophylla* (Bromeliaceae) en un bosque montano en Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, Costa Rica, v. 65, n. 2, p. 735-743, 2017.

RIOS, P. A. F.; SILVA, J. B.; MOURA, F. B. P. Visitantes florais de *Aechmea constantinii* (Mez) L. B. Sm. (Bromeliaceae) em um remanescente da Mata Atlântica do Nordeste Oriental. **Biotemas**, Florianópolis, v. 23, n. 4, p. 29-36, 2010.

ROCCA, M.A.; SAZIMA, M. Quantity versus quality: identifying the most effective pollinators of the hummingbird-pollinated *Vriesea rodigasiana* (Bromeliaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Berlim, v. 299, p. 97–105, 2013.

ROCHA, C.F.D.; COGLIATTI-CARVALHO, L.; NUNES-FREITAS, A.F.; ROCHA-PESSÔA, T.C.; DIAS, A.S.; ARIANI, C.V. & MORGADO, L.N. Conservando uma larga porção da diversidade biológica através da conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, Viçosa, v. 2, n. 1, p. 52-72, 2004.

ROCHA, J. Neotropical bromeliads as food sources for birds: a systematic review and perspectives on the management of ecological interactions. **Ibis**, West Sussex, v. 165, n. 1, p. 17-33, 2023.

- RODARTE, A. T. A.; BENEVIDES, C. R.; MOREIRA, M. M.; GRECO, A. V.; LEÃO, L. C. S.; OLIVEIRA, P.; MEDEIROS, T. A.; LIMA, H. A. Flowering phenology in a restinga community: 7 years of study. In: MEDEIROS, M. F. T.; HAIAD, B. S. **Aspects of brazilian floristic diversity: from botany to traditional communities**. Rio de Janeiro: Springer, 2022. p.3-46.
- SALDANHA, C. B.; SANTOS, C. S. F. **Fruticultura**. Londrina: Editora e distribuidora Educacional S. A., 2018. 232p.
- SAZIMA, I.; VOGEL, S.; SAZIMA, M. Bat pollination of *Encholirium glaziovii*, a terrestrial bromeliad. **Plant Systematics and Evolution**, Berlim, v. 168, n. 3, p. 167-179, 1989.
- SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; DALL'AGNOL, M. Auto-incompatibilidade em plantas. **Ciência Rural**, **Santa Maria**, v. 32, n. 6, p. 1083-1090, 2002.
- SCHMID, V. S.; SCHMID, S.; STEINER, J.; ZILLIKENS, A. High diversity of ants foraging on extrafloral nectar of bromeliads in the Atlantic rainforest of southern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, Abingdon, v. 45, n. 1, p. 39-53, 2010.
- SCHULTE, K.; HORRES, R.; ZIZKA, G. Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family (Poales, Bromeliaceae). **Senckenbergiana biologica**, Frankfurt, v. 15, p. 1-14, 2005.
- SEI. **Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. Informações municipais**. Físico-ambientais - mapas estaduais. Available. 2014. Disponível em: [https://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2669&Itemid=710](https://www.sei.ba.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2669&Itemid=710). Acesso em: 20 jan. 2021.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika**, Oxford, v. 52, p. 591-611, 1965
- SHIVANNA, K. R. Reproductive assurance through autogamous self-pollination across diverse sexual and breeding systems. **Current Science**, Bengaluru, p. 1255-1263, 2015.
- SICK H. **Ornitologia Brasileira**. Vol. 1. Terceira edição. Editora da Universidade de Brasília. 1984.
- SILVA, M. R.; BARBOSA, B. C.; FARIA, A. P. G. Reproductive biology and flower-visitor interactions of two bromeliad species from the Brazilian Atlantic Forest. **Plant Ecology and Evolution**, Meise, v. 155, n. 1, p. 16–28, 2022.
- SINGH, A.; KUMAR, A.; SINGH, R. P. **Recent trends of production, protection and improvement in agriculture**. London: Rubicon Publications, 2023.
- SIQUEIRA-FILHO, J. A.; LEME, E. M. C. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste - Biodiversidade, Conservação e suas Bromélias**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio. 2006.
- SIQUEIRA-FILHO, J. A.; MACHADO, I. C. S. Biologia reprodutiva de *Canistrum aurantiacum* E. Morren (Bromeliaceae) em remanescente da floresta Atlântica, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 15, p. 427-443, 2001.
- SOUZA, C. Rabo-branco-acanelado. **Wikiaves**, observação de aves e ciência cidadã para todos. 2024. Disponível em: <https://www.wikiaves.com.br/wiki/rabo-branco-acanelado>. Acesso: 05 fev. 2024.

- SOUZA, E. H.; MASSARIOLI, A. P.; MORENO, I. A. M.; SOUZA, F. V. D.; LEDO, C. A. S.; ALENCAR, S. M.; MARTINELLI, A. P. Volatile compounds profile of Bromeliaceae Flowers. **Revista de Biologia Tropical**, Costa Rica, v. 64, n. 3, p. 1101-1116, 2016.
- SOUZA, E. H.; SILVA, T. A.; AONA, L. Y. S.; SOUZA, F. V. D.; LEME, E. M. C. *Hohenbergia amargosensis* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a new ornamental species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 567, n. 1, p. 086–092, 2022.
- SOUZA, E. H.; VERSIEUX, L. M.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; CARVALHO COSTA, M. A. P.; MARTINELLI, A. P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 223, p. 53-61, 2017.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fundamentos de fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2021. 626 p.
- TALORA, D. C.; MORELLATO, L. P. C. Fenologia de espécies arbóreas em floresta de planície litorânea do sudeste do Brasil. **Revista Brasileira Botânica**, São Paulo, v. 1, n. 23, p. 13-26, 2000.
- TEIXEIRA, S. P.; MARINHO, C. R.; PAULINO, J. V. A Flor: aspectos morfofuncionais e evolutivos. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRO, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização**. Editora Projeto Cultural. Rio de Janeiro. 2014.
- THOMAZINI, M. J.; THOMAZINI, A. P. B. W. Diversidade de Abelhas (Hymenoptera: Apoidea) em Inflorescências de *Piper hispidinervum* (C.DC.). **Neotropical Entomology**, Berlin, v. 31, n.1, p. 27-34, 2002.
- TICKTIN, T.; MONDRAGÓN, D.; GAOUE, O. G. Host genus and rainfall drive the population dynamics of a vascular epiphyte. **Ecosphere**, Washington, v. 7, n.11, p. 1-13, 2016.
- TOVAR, L. V. **Metodologia para observaciones fenológicas**. Bogotá: INDERENA/ PNUD/ FAO, 1976.
- URBAN, M. C. 2015. Accelerating extinction risk from climate change. **Science**, New York, v. 348, p. 571-73.
- VELÁSQUEZ-NORIEGA, P.; KRÖMER, T.; PACHECO, L.F. Floral ecology of *Puya ctenorhyncha* (Bromeliaceae) an endemic plant of Bolivia. **Botanical Sciences**, Ciudad de México, v. 102, n. 1, p. 68-82, 2023.
- VICENTE, R. E.; SILVA, I. V. da.; IZZO, T. J. Jardins de formigas: qual o estado do conhecimento sobre essas interações mutualísticas entre formigas e plantas? **Boletim Do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais**, Belém, v. 15, n. 1, p. 55-63, 2020.
- WAGNER, K.; MENDIETA-LEIVA, G.; ZOTZ, G. Host specificity in vascular epiphytes: a review of methodology, empirical evidence and potential mechanisms. **AoB plants**, Oxford, v. 7, p. 1-25, 2015.
- WASER, N. M.; PRICE, M. V. Pollinator behaviour and natural selection for flower colour in *Delphinium nelsonii*. **Nature**, London, v. 302, n. 5907, p. 422-424, 1983.

- WEBB, C. J.; LLOYD, D. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. **New Zealand journal of botany**, New Zealand, v. 24, n. 1, p. 163-178, 1986.
- WENDT, T.; CANELA, M. B. F.; KLEIN, D. E.; RIOS, R.I. Selfing facilitates reproductive isolation among three sympatric species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Viena, v. 232, n.3-4, p. 201-212, 2002.
- WILSON, M.F. **Plant reproductive ecology**. New York: John Wiley and Sons. 1983. 280 p.
- WOLF, A.V.; BROWN, M.G.; PRENTISS, P.G. Concentratives properties of aqueous solutions: conversion tables. In: WEAST, R.C.; ASTLE, M.J. **Handbook of chemistry and physics**. 60 ed. Florida: CRC Press, 1979. p. 227-270.
- WOLOWSKI, M.; SAAD, C. F.; ASHMAN, T. L.; FREITAS, L. Predominance of self-compatibility in hummingbird-pollinated plants in the Neotropics. **Naturwissenschaften**, Hamburg, v. 100, p. 69-79, 2013.
- ZAMBON, V.; AGOSTINI, K.; NEPI, M.; ROSSI, M. L.; MARTINELLI, A. P.; SAZIMA, M. The role of nectar traits and nectary morphoanatomy in the plant-pollinator interaction between *Billbergia distachia* (Bromeliaceae) and the hermit *Phaethornis eurynome* (Trochilidae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 20, p. 1-12, 2019.
- ZAPATA, T. R.; ARROYO, M. T. K. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. **Biotropica**, Oxford, v. 10, n. 3, p. 221-230, 1978.
- ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 5th ed. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall, 2010. 944 p.
- ZEILEIS, A.; KLEIBER, C.; JACKMAN, S. Regression Models for Count Data in R. **Journal of Statistical Software**, Los Angeles, v. 27, n. 8, p. 1-25, 2008.
- ZIZKA, A.; AZEVEDO, J.; LEME, E.; NEVES, B.; COSTA, A. F. da; CÁ CERES, D.; ZIZKA, G. Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). **Diversity and Distributions: a journal of conservation**, Chichester, v. 26, p. 183-195, 2019.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos permitiram caracterizar a biologia floral e reprodutiva de sete espécies do gênero *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae) encontradas em fragmentos florestais da Mata Atlântica do estado da Bahia, sendo que em duas delas foram levantados dados da fenologia e interação com visitantes florais.

Os grãos de pólen das sete espécies de *Hohenbergia* apresentaram, além de características comuns que confirmam o agrupamento em um complexo, outras características individuais que evidenciam a diferenciação por espécies, principalmente relacionadas a exina e quantidade de poros. Tais resultados contribuem para a taxonomia e conservação das espécies.

O período de maior viabilidade polínica e receptividade do estigma ocorre na antese, sendo que todas as espécies se reproduzem por alogamia e apenas *H. nidularioides* e *H. capitata* também se reproduzem por autogamia. As barreiras reprodutivas identificadas foram: a falta de deposição de grãos de pólen na superfície do estigma; inibição da germinação dos grãos de pólen no primeiro e segundo terço do estilete; enovelamento dos tubos polínicos no segundo terço do estilete; e deposição irregular de calose no tubo polínico. Estes dados possuem potencial para subsidiar pesquisas de conservação, reprodução e melhoramento das espécies de *Hohenbergia*, além da sua conservação.

A análise fenológica de *H. amargosensis* e *H. stellata* evidenciou sazonalidade em suas fenofases com principais diferenças no período e quantidade de emissão de brotos, além do comportamento de floração. Ambas as espécies recebem influência da variação de precipitação e temperatura. Em relação aos polinizadores, espécies das famílias Trochilidae e Apis foram aquelas com maior frequência e número de visitas por flor. Este resultado pode contribuir para a criação de estratégias de conservação e preservação de espécies e ambientes associados.

Assim é esperado que este estudo apoie outros direcionados a criação de estratégias de conservação das espécies de *Hohenbergia* (Bromelioideae, Bromeliaceae), a fim de desacelerar o número de ameaças de extinção ocorrentes.