# 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

MORFOANATOMIA DO PISTILO E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE ESPÉCIES DE *Lymania* (BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO NORDESTE DO BRASIL E AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO

**Ila Adriane Maciel de Faro** 

# MORFOANATOMIA DO PISTILO E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE ESPÉCIES DE *Lymania* (BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO NORDESTE DO BRASIL E AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO

### **Ila Adriane Maciel de Faro**

Bacharel em Agronomia Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2020

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Dra. Maria Angelica Pereira de Carvalho Costa Coorientador: Dr. Everton Hilo de Souza

Coorientadora: Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza

CRUZ DAS ALMAS – BA 2023

## FICHA CATALOGRÁFICA

#### F237m

Faro, Ila Adriane Maciel de.

Morfoanatomia do pistilo e receptividade do estigma de espécies de Lymania (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção / Ila Adriane Maciel de Faro.\_ Cruz das Almas, Bahia, 2023. 81f.; il.

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa.

Co-Orientador: Prof. Dr. Everton Hilo de Souza

1.Botanica. 2.Biologia Floral – Melhoramento genético. 3. Bromélia – Gênero (Bromeliaceae). I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 581

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração Neubler Nilo Ribeiro da Cunha (Bibliotecário - CRB5/1578)

(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico).

# 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

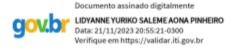
# MORFOANATOMIA DO PISTILO E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE ESPÉCIES DE Lymania (BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO NORDESTE DO BRASIL E AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de Ila Adriane Maciel de Faro

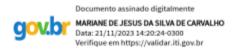
#### Aprovada em



Prof. Dra. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB (Orientador)



Prof. Dra. Lidyanne Yuriko Saleme Aona Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB (Membro)



Prof. Dra. Mariane de Jesus da Silva de Carvalho Centro universitário Maria Milza - UNIMAM (Membro)

# Dedicatória

Aos meus pais pelo amor e companheirismo, e à João Faro pelo amor genuíno e que me traz tanta luz.

### **AGRADECIMENTOS**

À Deus, força maior que me guiou para chegar até aqui.

À minha família, em especial aos meus pais por serem presentes e ativos nos meus desafios e conquistas, amo vocês !

À minha orientadora Dra. Maria Angelica Pereira de Carvalho Costa pela oportunidade de entrar no mundo da pesquisa, por tantos ensinamentos, pela confiança e pela oportunidade de cursar o mestrado, pela amizade e pelo cuidado ao longo desses 10 anos, muito obrigada!

Ao meu coorientador Dr. Everton Hilo de Souza, pela excelente orientação, pela dedicação como professor e orientador, pela compreensão, amizade e por quem tenho grande admiração enquanto profissional, sou grata!

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e Embrapa - Mandioca e Fruticultura por conceder o acesso às estruturas físicas e recursos materiais para a realização dessa pesquisa;

À Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza pela contribuição neste trabalho;

A CAPES pelo auxílio financeiro durante os anos em que estive na Pós-Graduação por meio da bolsa de estudo, residindo em Cruz das Almas, BA;

Ao amigo Me. Simplício dos Santos Mota pelas inúmeras horas de análises juntos, pelas trocas e momentos juntos;

À amiga Andresa Priscila, que foi essencial para realização da minha dissertação, muito obrigada por tudo!

Aos amigos, Gabriel Reginaldo, Karine da Silva pelos momentos, conversas, e exemplos de ser humano e de profissionais dedicados e focados que eu admiro, saudade grande e muito amor por vocês!

À amiga Virginia Maria, pela irmandade de anos, conversas e por nossas trocas sinceras, pela nossa torcida incessável do sucesso que vamos sempre buscar!

À Mônica Lanzoni Rossi pelo auxílio e colaboração nas etapas da análise da microscopia eletrônica de varredura e aos Laboratórios de Microscopia Eletrônica aplicada à Pesquisa Agropecuária da ESALQ/USP e Histopatologia e Biologia

Estrutural de Plantas do CENA/USP pela disponibilidade da estrutura física para realização deste trabalho;

Aos doutorandos e colegas Railson Alves, Sandra de Oliveira pelas orientações e ajuda sempre, à Rivã Ribeiro disponibilidade, ajuda e trabalho ativo no banco de germoplasma, gratidão!

# MORFOANATOMIA DO PISTILO E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE ESPÉCIES DE Lymania (BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO NORDESTE DO BRASIL E AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO

RESUMO: O gênero Lymania (Bromeliaceae) é endêmico do Sul da Bahia do Bioma Mata Atlântica é constituído por dez espécies: Lymania alvimii, L. azurea, L. brachycaulis, L. corallina, L. globosa, L. involucrata, L. languida, L. marantoides, L. smithii e L. spiculata. Considerando o grande potencial econômico e o papel ambiental relevante das espécies de Bromeliaceae, o estudo dos aspectos morfoanatômicos e da biologia reprodutiva são fundamentais como estratégia para a reprodução. conservação e melhoramento genético. A pequena distribuição aliada a destruição dos habitats tem levado essas espécies a algum risco de ameaça. Diante do exposto, esta dissertação está dividida em dois capítulos que abrangem estudos da morfoanatomia e receptividade do estigma (Capítulo 1), e morfoanatomia de ovário, óvulo e nectário (Capítulo 2). O primeiro capítulo teve como objetivo estudar a morfoanatomia do estigma e estilete utilizando técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia de Luz, juntamente com a receptividade do estigma, fator elementar para a determinação do melhor período de polinização e sucesso reprodutivo das espécies. O segundo capítulo estudou a morfoanatomia utilizando as mesmas metodologias para contribuir os estudos taxonômicos do gênero, bem como subsidiar ações voltadas para a conservação e programas de melhoramento genético das espécies. Para a morfoanatomia do estigma de Lymania foram observados dois tipos: conduplicado-espiral em L. azurea, L. brachycaulis, L. corallina, L. globosa, L. involucrata, L. languida e L. spiculata, e simples-ereto para L. smithii. A maior receptividade do estigma foi observada na antese e se prolongou até a pós-antese independente da metodologia utilizada. Todas as espécies apresentaram o mesofilo formado por parênquima homogêneo de células isodiamétricas, pequenos espaços intercelulares e numerosos idioblastos contendo ráfides. Foi possível observar tricomas epidérmicos na parede do ovário em L. brachycaulis, L. globosa e L. involucrata. Os maiores números de óvulos por lóculo foram observados em L. brachycaulis (97), L. languida (93) e L. involucrata (87) e consequentemente essas espécies possuem um maior potencial em geração de sementes. Os resultados apresentados trazem contribuições importantes para o estudo da taxonomia, morfologia, conservação, reprodução e melhoramento das espécies de Lymania endêmicas e ameaçadas de extinção.

PALAVRAS-CHAVE: Bromélia, Bromelioideae, reprodução; conservação; taxonomia.

# PISTIL MORPHOANATOMY AND STIGMA RECEPTIVITY OF Lymania SPECIES (BROMELIACEAE) ENDEMIC TO NORTHEAST BRAZIL AND THREATENED WITH EXTINCTION

#### **ABSTRACT**

ABSTRACT: The genus Lymania (Bromeliaceae) is endemic to the south of Bahia in the Atlantic Forest Biome and consists of ten species: Lymania alvimii, L. azurea, L. brachycaulis, L. corallina, L. globosa, L. involucrata, L. languida, L. marantoides, L. smithii and L. spiculata. The small distribution allied to habitat destruction has led these species to some risk of threat. Considering the great economic potential and the relevant environmental role of Bromeliaceae species, the study of morphoanatomical aspects and reproductive biology are essential as a strategy for reproduction, conservation and genetic improvement. Given the above, this dissertation is divided into two chapters that cover studies of the morphoanatomy and receptivity of the stigma (Chapter 1), and morphoanatomy of the ovary, ovule and nectary (Chapter 2). The first chapter entitled "Morphoanatomy and stigma receptivity of species of Lymania (Bromeliaceae) endemic to northeastern Brazil and endangered", aimed to study the morphoanatomy of the stigma and style using Scanning Electron Microscopy and Light Microscopy techniques, together with stigma receptivity, an elementary factor for determining the best pollination period and reproductive success of the species. The second chapter, entitled "Morphoanatomy of the ovary, ovule and nectary of species of Lymania (Bromeliaceae) endemic to northeastern Brazil and threatened with extinction" studied the morphoanatomy using the same methodologies to contribute to taxonomic studies of the genus, as well as to subsidize actions aimed at for the conservation and genetic improvement programs of the species. For the morphoanatomy of the stigma of Lymania, two types were observed: conduplicatespiral in L. azurea, L. brachycaulis, L. corallina, L. globosa, L. involucrata, L. languida and L. spiculata, and simple-erect for L. smithii. The greater receptivity of the stigma was observed at anthesis and lasted until the post-anthesis, regardless of the methodology used. All species presented an inferior, tricarpellary, trilocular ovary with axial placentation, with the mesophyll formed by homogeneous parenchyma of isodiametric cells, small intercellular spaces and numerous idioblasts containing raphides. It was possible to observe epidermal trichomes on the ovary wall in L. brachycaulis, L. globosa and L. involucrata. The highest numbers of ovules per locule were observed in L. brachycaulis (97), L. languida (93) and L. involucrata (87) and consequently these species have a greater potential for seed generation. The ovules are arranged in rows at the placental attachment points that run along the ovaries. The nectaries of all species are septal and secrete an average of 20 uL of nectar. The results presented bring important contributions to the study of taxonomy, morphology, conservation, reproduction and improvement of endemic and endangered Lymania species.

**KEYWORDS**: Bromeliad, Bromelioideae, reproduction; conservation; taxonomy

# LISTA DE FIGURAS

# CAPÍTULO I

<b>Figura 1 -</b> Espécies de <i>Lymania</i> (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil ameaçadas de extinção. A) <i>L. azurea</i> ; B) <i>L. brachycaulis</i> ; C) <i>L. corallina</i> ; D) <i>L. globosa</i> ; E) <i>I. involucrata</i> ; F) <i>L. languida</i> ; G) <i>L. smithii</i> ; H) <i>L. spiculata</i>	L. a.
Figura 2 - Morfoanatomia do estigma em Espécies de <i>Lymania</i> (Bromeliaceae) endêmicas de nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. Do tipo conduplicado-espiral em <i>L. azure</i> (Figura 2A-E); <i>L. brachycaulis</i> (Figura 2F-K); <i>L. corallina</i> (Figura 2L-O); <i>L. globosa</i> (Figura 2F-K); <i>L. involucrata</i> (Figura 37-W)	lo ea o_ T-
<b>Figura 3 -</b> Morfoanatomia do estigma em Espécies de <i>Lymania</i> (Bromeliaceae) endêmicas de nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. Do tipo simples ereto para <i>L. smithii</i> (Figura 3EH), e do tipo conduplicado-espiral para <i>L. languida</i> (Figura 3A-D), <i>L. spiculata</i> (Figura 3L)	=- : -
<b>Figura 4 -</b> Avaliação da receptividade do estigma de 8 espécies de <i>Lymania</i> (Bromeliaceae endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção em diferente metodologias	s
CAPÍTULO II	
<b>Figura 1 -</b> Morfoanatomia do óvulo, ovário e nectário em Espécies de <i>Lymania</i> (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. <i>L. azure</i> (Figura 1A-H), <i>L. brachycaulis</i> (Figura 1P)	ea  -
<b>Figura 2.</b> Morfoanatomia do óvulo, ovário e nectário em Espécies de <i>Lymania</i> (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. <i>L. corallin</i> (Figura 2A-F), <i>L. globosa</i> (Figura 2G-M)	
<b>Figura 3 -</b> Morfoanatomia do óvulo, ovário e nectário em Espécies de <i>Lymania</i> (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. <i>L. involucrat</i> (Figura 3A-G), <i>L. languida</i> (Figura 3H-N)	
<b>Figura 4 -</b> Morfoanatomia do óvulo, ovário e nectário em Espécies de <i>Lymania</i> (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. <i>L. smith</i> (Figura 4A-K)	
Figura 5 - Volume de néctar (µI) concentração de Brix° em flores de em espécies de <i>Lymania</i> (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção, ao longo dia (valores médios 10 flores)	

# LISTA DE TABELAS

# CAPÍTULO I

Tabela 1 - Espécies de Lymania (Bromelioideae, Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil, incluindo o município de coleta e voucher do Herbário HURB, endemismo e status de ameaça
Tabela 2 - Caracteres morfológicos do estigma e estilete de 8 espécies de Lymania           (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção
Tabela 3 - Receptividade do estigma nas 8 espécies de Lymania (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção, avaliada na pré-antese, antese e pós-antese por duas diferentes metodologias
CAPÍTULO II
Tabela 1 - Espécies de Lymania (Bromelioideae, Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil,         incluindo o município de coleta e voucher do Herbário HURB, endemismo e status de         ameaça
Tabela 2 - Caracteres morfológicos do ovário de sete espécies de Lymania (Bromeliaceae)         endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção
Tabela 3 - Caracteres morfológicos do ovário de sete espécies de Lymania (Bromeliaceae)         endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção

# SUMÁRIO

	Página
LISTA DE	
FIGURAS10	10
LISTA DE TABELAS	11
SUMÁRIO	12
INTRODUÇÃO GERA	13
REFERENCIAL TEÓRICO	15
Bromeliaceae	16
Gênero Lymania	18
Morfologia e Reprodução	20
REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO I	33
INTRODUÇÃO	36
MATERIAIS E MÉTODOS	38
Material vegetal e condições de crescimento	38
Morfoanatomia do Estigma	39
Receptividade do Estigma	40
RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
Morfoanatomia do Estigma	41
Receptividade do Estigma	46

# SUMÁRIO

	Página
CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO II	56
RESUMO	57
ABSTRACT	58
INTRODUÇÃO	59
MATERIAIS E MÉTODOS	61
Material vegetal e condições de crescimento	61
Morfoanatomia do ovário, óvulo e nectário	62
RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
Morfoanatomia do ovário, óvulo e nectário	63
CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS	77

# INTRODUÇÃO GERAL

Bromeliaceae possui um grande número de espécies e gêneros e está presente em diversos ecossistemas distribuídos em todo território nacional, principalmente na Mata Atlântica. A família é predominantemente neotropical, pertencente a Ordem Poales (APG IV, 2016), sendo considerada morfologicamente e ecologicamente uma das mais diversas das angiospermas (GIVNISH et al., 2011).

O gênero *Lymania* Read se originou da Mata Atlântica do sul da Bahia, pertence à subfamília Bromelioideae e foi descrito por R. W. Read, em homenagem ao botânico Lyman Bradford Smith (READ, 1984) em 1984 com o objetivo de reunir as espécies com ovários sulcados ou alados todas endêmicas da Mata Atlântica brasileira. Atualmente, o gênero possui dez espécies, sendo elas: *Lymania azurea* Leme, *L. alvimii* (L.B.Sm. & Read) Read, *L. brachycaulis* (Baker) L.F.Sousa, *L. corallina* (Beer) Read, *L. globosa* Leme, *L. involucrata* Leme & E.H.Souza, *L. marantoides* (L.B.Sm.) Read, *L. languida* Leme, *L. smithii* Read e *L. spiculata* Leme & Forzza (GOUDA et al., 2023). Todas as espécies são endêmicas do Sul da Bahia, exceto *L. smithii* que ocorre nos estados de Pernambuco e Alagoas (SOUSA et al., 2007).

Dentre inúmeras possibilidades que tem a família, a sua utilização como planta ornamental vem se destacando, pois são bem adaptadas a uma variedade de condições ambientais e requerem manutenção mínima (BROWN; GILMARTIN, 1989; BENZING, 2000). Em decorrência deste crescente interesse, associado ao extrativismo predatório que se intensificou nos últimos anos, somado a acelerada destruição dos habitats, fez com que várias espécies de Bromeliaceae entrassem na lista vermelha de ameaçadas de extinção (FORZZA et al., 2013).

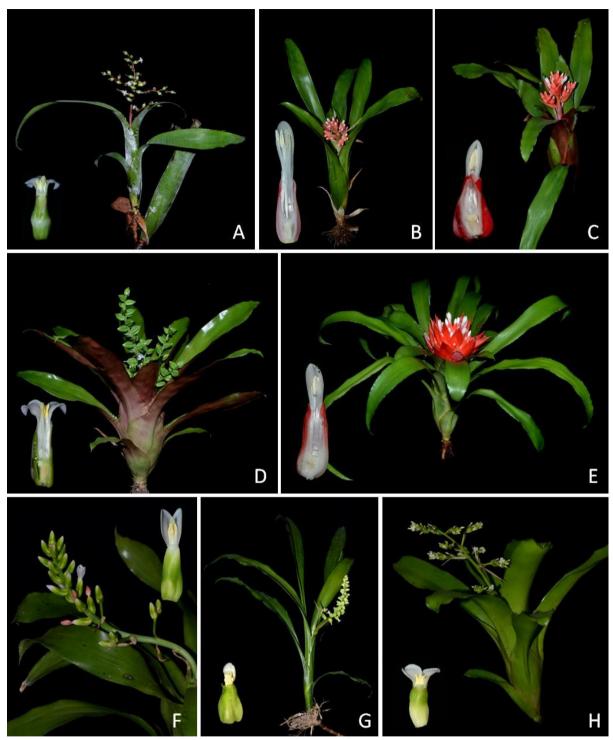
A maioria das espécies de *Lymania* está na lista de espécies ameaçadas de extinção conforme o Livro Vermelho da Flora do Brasil (FORZZA et al., 2013; SOUZA et al., 2021) e International Union for Conservation of Nature (União Internacional para Conservação da Natureza) (IUCN, 2023) ou ainda não foram avaliadas quanto ao seu grau de ameaça.

O conhecimento da biologia floral e reprodutiva é importantes ferramentas para subsidiar o manejo da cultura para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento genético, conservação e manutenção das espécies nos ecossistemas, além de poder auxiliar na resolução de questões taxonômicas.

Diante do exposto, esta dissertação está dividida em dois capítulos que abrangem estudos da morfoanatomia e receptividade do estigma (Capítulo 1), e morfoanatomia de ovário, óvulo e nectário (Capítulo 2) em oito espécies do gênero *Lymania: Lymania azurea* (Figura 1A), *L. brachycaulis* (Figura 1B), *L. corallina* (Figura 1C), *L. globosa* (Figura 1D), *L. involucrata* (Figura 1E), *L. languida* (Figura 1F), *L. smithii* (Figura 1G) e *L. spiculata* (Figura 1H).

O primeiro capítulo intitulado "Morfoanatomia e receptividade do estigma de espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção", teve como objetivo estudar a morfoanatomia do estigma e estilete utilizando técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia de Luz (ML), juntamente com a receptividade estigmática, fator elementar para a determinação do melhor período de polinização e sucesso reprodutivo das espécies. Desta forma, neste capítulo foram estudadas diferentes metodologias, para dar suporte às ações de reprodução e conservação das espécies, bem como para programas de melhoramento genético da família Bromeliaceae.

No segundo capítulo, intitulado "Morfoanatomia do ovário, óvulo e nectário de espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção" estudou a morfoanatomia utilizando MEV e ML, para contribuir para os estudos taxonômicos do gênero, bem como subsidiar ações voltadas para a conservação e programas de melhoramento genético das espécies. O trabalho teve como objetivo a caracterização de um estudo comparativo nos padrões da morfologia estigmática utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia de Luz (ML).



**Figura 1.** Espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. A) *L. azurea*; B) *L. brachycaulis*; C) *L. corallina*; D) *L. globosa*; E) *L. involucrata*; F) *L. languida*; G) *L. smithii*; H) *L. spiculata*.

# REFERENCIAL TEÓRICO

#### **Bromeliaceae**

Bromeliaceae é predominantemente neotropical, pertencente a Ordem Poales (APG IV, 2016), morfologicamente e ecologicamente considerada uma das mais diversas das angiospermas, constando atualmente de 82 gêneros e 3.754 espécies (GIVNISH et al., 2011; GOUDA et al., 2023), ocorrendo em ambientes áridos a muito úmidos, com ampla distribuição geográfica (SMITH; DOWNS, 1974; BUTCHER; GOUDA, 2019). A família está dividida em oito subfamílias (Bromelioideae, Brocchinioideae, Hechtioideae, Lindmanioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Tillandsioideae), com base na morfologia das flores, frutos, sementes, e, principalmente por dados filogenéticos e moleculares (GIVNISH et al., 2007; 2011).

Apresentando características distintas, os gêneros e espécies inseridos em Bromeliaceae são altamente adaptados a diferentes ambientes e possuem uma grande diversidade morfológica e anatômica, com plantas epífitas, terrestres e litófitas. (BENZING, 2000). As espécies são caracterizadas como ervas perenes, caulescentes, rizomatosas ou estoloníferas com raízes absorventes ou apenas fixadoras (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2020).

As espécies possuem em sua grande maioria folhas alternas em espiral e de característica imbricada formando uma roseta, que diverge amplamente quanto a morfologia, algumas vezes tubulares até amplamente abertas (BENZING, 2000). A margem foliar varia de inteira a serrilhada (BENZING, 2000; VASCONCELLOS; OLIVEIRA, 2019) e possui tricomas especializados (peltados) que são responsáveis pela adaptação das espécies nos mais variados habitats, possibilitando as plantas absorverem umidade e nutrientes, caraterística típica da família (VASCONCELLOS; OLIVEIRA, 2019).

A inflorescência é terminal ou lateral, simples ou composta, organizadas em panícula, racemo ou capítulo, mais raramente as flores são isoladas (*Tillandsia usneoides* L. (L.)], e comumente apresentam escapo e brácteas coloridas e vistosas. Pode se apresentar séssil ou mais comumente ser sustentada por um eixo de origem caulinar, o escapo parcial ou literalmente recoberto por bráctea, as quais em companhia com as flores coloridas, desempenham papel significativo em atrair

polinizadores, corroborando na família a ornitofilia (CRONQUIST, 1981; DAHLGREN et al., 1985, WANDERLEY; MARTINS, 2007; GIVNISH et al., 2014).

As flores geralmente são vistosas e com variadas combinações de coloração, possuem pétalas e sépalas livres ou conatas, sendo as sépalas simétricas a fortemente assimétricas. O androceu possui seis estames, sendo três antesépalos e três antepétalos com anteras bitecas, dorsifixas ou raramente basifixas. Os ovários podem variar de súpero, ínfero ou semi-ínfero, tricarpelar, trilocular com estilete terminal, longo a muito reduzido e estigma com três lobos, com ou sem papilas e possuindo diferentes morfologias. Os frutos são do tipo baga ou cápsula total ou parcialmente septicida, às vezes formando sincarpo. As sementes, em geral, são numerosas, com apêndices plumosos (coma), caudados ou aliformes ou desprovidos de apêndices (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2020).

Bromeliaceae possui uma relação de complexas interações com outros vegetais, animais e microrganismos que são parcial ou totalmente dependentes do micro-habitat aquático o qual se forma entre as folhas. Essas interações são muito importantes para que os indivíduos se alimentem, encontrem abrigo, acasalam-se e cuidem de sua prole (DEL-CLARO, 2012). Dessa forma, as bromélias assumem um papel de importância nos ecossistemas naturais, pois mesmo com atividades metabólicas, em torno da própria nutrição, desenvolvem um papel de constituição de microambiente favorável para diversos animais, desde formigas, anfíbios, aranhas, serpentes, dentre outros (BENZING, 2000; MOREIRA et al., 2006).

Para além da funcionalidade no ecossistema, por sua diversidade, alguns espécies inseridas em Bromeliaceae apresentam diferentes potenciais de uso, como plantas ornamentais (SOUZA et al., 2012; 2017) por sua diversidade de formas, sendo em geral plantas bem características, tendo grande importância econômica pela intensa procura para o emprego em decorações de interior e projetos paisagísticos, atividade esta, que tem se intensificado nos últimos anos e colocado grau de ameaça em diversas espécies (MOREIRA et al., 2006).

Algumas espécies podem ser utilizadas também para alimentação, a exemplo dos abacaxizeiros (FAO, 2018); produção de fibras para fabricação de material rústico, como cordas e tecidos; na indústria automotiva e fabricação de papel (ZAH et al., 2007; FERREIRA et al., 2010); enzimas de ação proteolítica e metabólitos secundários com atividades biológicas antioxidantes, importantes para a indústria farmacêutica e cosmética (MANETTI et al., 2009; FERREIRA et al., 2011).

Por obterem respostas fisiológicas significativas às mudanças das condições ambientais, podem ser utilizadas como bioindicadoras da qualidade do ar como, por exemplo, certas espécies do gênero *Tillandsia* (SOUZA et al., 2016, 2020) ocorrentes em ambiente urbano. Ao mesmo tempo, as rápidas respostas ao ambiente e grande adaptabilidade permitem o estabelecimento de novas espécies vegetais e a ocorrência de padrões de agrupamentos fisionomicamente diferenciados, que são consideradas chaves na manutenção da Mata Atlântica sob mudanças climáticas globais (SCARANO, 2002; SAMPAIO et al., 2012).

Devido ao alto grau de endemismo e expressivo valor ecológico decorrentes principalmente de sua interação com a fauna, Bromeliaceae representa um dos grupos taxonômicos mais relevantes da Mata Atlântica, contribuindo significativamente para a biodiversidade das comunidades (KESSLER; KRÖMER, 2000; CANELA; SAZIMA, 2005; KRÖMER et al., 2006; MARTINELLI et al., 2008).

A distribuição da família, restrita às Américas, é influenciada por uma série de fatores, como: os eventos históricos de mudanças climáticas e geográficas, alterações orgânicas associadas como o início da elevação dos Andes durante o Mioceno com cerca de 20 milhões de anos atrás (GIVNISH et al., 2007; 2011) e interações ecológicas com outras espécies e barreiras físicas e geográficas.

Estes fatores delimitam a dispersão de sementes, com adaptações funcionais e ecológicas que construíram e constroem ainda a filogenia em constante mudança, e permitiram a Bromeliaceae ocupar uma gama de habitats extremos em quase toda a América do Sul tropical e subtropical (BENZING, 2000). As espécies ocorrem do norte da Patagônia até o sul dos EUA (Flórida); como também há uma única espécie [*Pitcairnia feliciana* (A.Chev.) Harms & Mildbr.] na África Ocidental, mas especificamente na Guiné Central (CHRISTENHUSZ; CHASE, 2013).

### Gênero Lymania

Lymania Read pertencente à subfamília Bromelioideae e foi descrito por R. W. Read, em homenagem ao botânico Lyman Bradford Smith e aporta dez espécies (SOUZA et. al., 2007), sendo elas: Lymania azurea Leme, L. alvimii (L.B.Sm. & Read) Read, L. brachycaulis (Baker) L.F.Sousa, L. corallina (Beer) Read, L. globosa Leme, L. involucrata Leme & E.H.Souza, L. marantoides (L.B.Sm.) Read, L. languida Leme, L. smithii Read e L. spiculata Leme & Forzza (GOUDA et al., 2023).

As espécies de *Lymania* são ervas, epífitas, raramente terrestres como a *L. smithii*, propagam-se por sementes ou, preferencialmente, por estolões de crescimento ascendente, geralmente alongados, cobertos por catáfilos imbricados e membranáceos. As rosetas formam espaços lageniformes à estreito infundibuliformes, com 5 a 15 folhas, cartáceas a subcoriáceas, concolores ou discolores. As bainhas foliares são elípticas, inteiras e as lâminas foliares linear ou lanceolada, apresentam-se pouco serrilhadas a inteiras (SOUSA; WENDT, 2008).

O escapo floral normalmente é ereto, tendo como exceção a *L. languida*, bem elevado ou incluso no tanque como a *L. involucrata*. As brácteas escapais são lineares a ovadas, membranáceas, inteiras, verde-claras a rosadas, senescentes durante a antese. A Inflorescência frequentemente são ramificadas, raramente simples como a *L. marantoides* (SOUZA et al., 2007).

As brácteas primárias da inflorescência são semelhantes às brácteas escapais. As brácteas florais são ausentes ou inconspícuas. As flores são hermafroditas, sésseis, com distribuição polística, laxas ou congestas nos ramos, inodoras ou raramente perfumadas. As sépalas são agudas arredondadas, inteiras, assimétricas com uma asa lateral membranácea, geralmente conadas ou raramente sublivres, carenadas ou carenas ausentes e as pétalas espatuladas, livres ou conadas, com apêndices basais ausentes e calosidades longitudinais presentes na face adaxial (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2020).

Os estames possuem filetes antipétalos, adnatos às pétalas e antissépalos livres, ou todos adnatos ao tubo da corola. O estigma é descrito como conduplicado-espiral, raramente com lobos não contorcidos, variando de branco, creme ou verde claro. O ovário é ínfero, profundamente sulcado ou alado com tubo epigínico curto, placentação axial e apical e óvulos caudados. Os frutos são tipo baga, subglobosa, profundamente sulcado ou alado o que caracteriza uma sinapomorfia do gênero (FLORA E FUNDA DO BRASIL, 2020).

O gênero originou da Mata Atlântica do sul da Bahia e, posteriormente, diversificou-se em dois clados principais (SOUZA et al., 2007). Um clado (*L. alvimii, L. spiculata, L. azurea e L. smithii*) é unida pela presença de brácteas no escapo que logo se desintegram, e um sulco (em oposição ao ovário alado), o segundo clado dentro do gênero (*L. brachycaulis, L. corallina*, e *L. globosa*) é unida pelo comprimento da flor (variando de 2-3,5 cm), ápice da sépala aguda a atenuada, sépalas carenadas e ovário alado (SOUZA et al., 2007), *L. marantoides* e *L. involucrata* estaria junto *L.* 

brachycaulis, L. corallina e L. globosa pela proximidades nas características taxonômicas, porém não foi incluído no estudo na época.

A faixa geográfica restrita do gênero que vive em fragmentos da Mata Atlântica, coloca-os sob diferentes níveis de ameaça, como 'Criticamente Ameaçada'(CR), 'Em Perigo' (EP) a Vulnerável (VU) (SOUSA; WENDT, 2008; FORZZA et al., 2013; IUCN 2020, presente em vegetação em Floresta Ombrófila (Floresta Pluvial) e Restinga (FLORA DO BRASIL 2020), onde existem espécies ameaçadas de extinção, devido principalmente ao desmatamento e destruição dos seus habitats.

### Morfologia e Reprodução

Os aspectos da biologia reprodutiva, informações sobre os mecanismos reprodutivos, fluxo de grãos de pólen e sementes, ecologia da polinização e dispersão de sementes são conhecimentos indispensáveis para a reprodução das espécies (BONATO; NEGRELLE, 2006), assim como o conhecimento do sistema de polinização é essencial para o entendimento das relações planta/ animal para a conservação dos ecossistemas (ZANELLA et al., 2012; BASTOS et al., 2017;).

Investigações da morfologia da flor, bem como da sua constituição como pétalas, sépalas, estames e pistilo, fornecem informações importantes para estudos reprodutivos (SAJO et al., 2004), bem como para estudos taxonômicos auxiliando na melhor delimitação de espécies muito semelhantes (MAJEED et al., 2020), além da compreensão das relações evolutivas em Bromeliaceae (KUHN et al., 2016).

As pétalas e sépalas formam o perianto que tem a função de proteção das estruturas reprodutivas e atração de polinizadores. O estame ou androceu é composto pelas anteras, filete conectivo e responsável pela produção dos grãos de pólen, enquanto o pistilo ou gineceu é composto pelo estigma, estilete, ovário e oosfera, sendo responsável pela produção das sementes caso haja a fertilização (APPEZZATO et al., 2003).

A morfologia do pistilo e do óvulo pode afetar o sucesso da polinização e consequentemente da fertilização (KESSLER, 2020). A forma e o tamanho podem influenciar a eficiência na deposição dos grãos de pólen, bem como a precisão da colocação dos mesmos na superfície do estigma (CHALÉ, 2018). O tamanho e a posição do óvulo dentro do ovário, também podem afetar a probabilidade de

fertilização, maiores óvulos e mais centralmente localizados são mais propensos a serem fertilizados (RUDALL et al., 2002).

A evolução da morfologia do pistilo é moldada por uma complexa interação de fatores genéticos e interações ecológicas, que demonstram a possibilidade de variações entre diferentes espécies de plantas e que essas variações podem ser influenciadas por fatores como o sistema de polinização e as relações filogenéticas (HESSE; HALBRITTER, 2018).

O estigma é o receptor dos grãos de pólen e está envolvido no reconhecimento célula-célula, nutrição e regulação do crescimento do tubo polínico, bem como na atração e seleção dos grãos de pólen, podendo diferenciar entre grãos de pólen compatível e incompatível (BROWN, 1984).

O estigma das flores da família das Bromeliaceae é coberto por exsudato, que ajuda a reter os grãos de pólen. Tal exsudato apresenta composição diferente, variando conforme a espécie e pode influenciar na adesão, germinação dos grãos de pólen, hidratação, e crescimento do tubo polínico no estigma, contribuindo para provável fertilização, com formação de frutos e sementes (DAFNI; MAUES, 1998; SOUZA et al., 2020).

Quanto ao formato, o estigma pode ser estreito e alongado a largo e achatado. Esta variação pode estar relacionada a estratégia de polinização empregada por cada espécie, com estigmas mais estreitos potencialmente mais adequados para receber os grãos de pólen de pequenos polinizadores, e estigmas mais largos mais adequados para polinizadores generalistas (GIVNISH et al., 2014).

O estilete é a estrutura alongada que conecta o estigma ao ovário e serve de passagem para os tubos polínicos durante a fertilização (DELLINGER et al., 2018). Ele fornece suporte físico ao estigma, posicionando-o de forma a facilitar o contato com os grãos de pólen (CANELA; SAZIMA, 2005). O estilete também desempenha um papel na seleção e reconhecimento dos grãos de pólen compatível, pois pode apresentar características de superfície específicas que promovem ou dificultam a adesão dos grãos de pólen (SOUZA et al., 2017).

Além disso, o estilete pode ter um papel na secreção de substâncias que atraem ou nutrem os tubos polínicos durante seu crescimento em direção aos óvulos (LEROY et al., 2009). O comprimento e a morfologia do estilete podem variar entre as espécies, influenciando na eficiência do crescimento do tubo polínico e no sucesso da

fertilização (KESSLER et al., 2000; WEBBER, 2002; MATALLANA et al., 2010; SOUSA et al., 2021; SILVA et al., 2022).

O ovário de uma flor desempenha um papel crucial no processo reprodutivo, aportando reservas de amido, necessários para o crescimento e desenvolvimento ovariano (RUDALL, 2002). Em alguns casos, o ovário não fertilizado pode ainda induzir a flor para abrir, facilitando a polinização cruzada (BASTOS et al., 2017). Após a polinização e fertilização, o ovário se desenvolve em um fruto, e os óvulos dentro do ovário em sementes (PALMA-SILVA et al., 2009). Estando a formação e o crescimento do fruto intimamente associados ao aparelho reprodutivo da planta (WANG et al., 2020).

O nectário é responsável pela produção do néctar que atrai e recompensa os polinizadores, facilitando a polinização e garantindo o sucesso reprodutivo das espécies (LEE et al., 2005), e podem ser encontrados em diferentes locais dentro da flor, como no perianto, carpelos ou mesmo como nectários extraflorais no caso das angiospermas em geral (DEL-CLARO et al., 1996). Da mesma forma que podem exibir diversas estruturas, incluindo estômatos modificados e tecidos glandulares (DAVIES et al., 1998). Em Bromeliaceae, os nectários são septais, característica floral marcante, relacionados à evolução da epigenia nas Comelinídeas, em especial Bromeliaceae (LEME, 2016; SAJO, 2004).

O néctar é uma substância aquosa rica em monossacarídeos, secretada pelos nectários, sendo importante fonte de energia para os polinizadores (PROCTOR et al., 1996). A composição e a concentração do néctar variam entre espécies e são influenciadas principalmente pela idade da planta e pelas condições ambientais, como temperatura e umidade (KRÖMER et al., 2008), tipo de polinização e presença de metabólitos específicos (GÖTTLINGER; LOHAUS, 2022).

Uma das características mais marcantes e importantes na reprodução e perpetuação das espécies, especialmente para Bromeliaceae, são as flores arranjadas em inflorescência, muitas vezes, compostas por um grande número de flores dispostas de forma densa e vistosa, rica em néctar, favorecendo diversas síndromes de polinização (WENDT et al., 2002; MARQUES et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2018; LENZI; PAGGI, 2020)

Apesar disso, é uma das poucas famílias em que a polinização por vertebrados predomina sobre a entomofilia (SAZIMA et al., 1989; MARTINELLI, 1994; SAZIMA et al., 2000), onde os beija-flores são os seus principais agentes polinizadores,

caracterizando a ornitofilia seu principal sistema de polinização (BENZING, 2000; WEBBER, 2002; CANELA; SAZIMA, 2003; VOSGUERITCHIAN; BUZATO, 2006; SCROK; VARASSIN, 2011; ROCCA; SAZIMA, 2013; GIVNISH et al., 2014, MAGALHÃES et al., 2018).

Existem também a presença de polinizadores como abelhas, formigas, borboletas, e até mesmo, morcegos que têm papel de potencializar o display floral e a atratividade para os polinizadores, bem como aumentar a eficiência da transferência dos grãos de pólen entre as flores (SAZIMA, 2000; ZILLIKENS, 2011; VARASSIN; WOLOWSKI et al., 2013; MAGALHÃES et al., 2018; PINHEIRO et al., 2018;).

### Receptividade do Estigma

A receptividade do estigma se refere ao período de tempo durante o qual o estigma de uma flor está receptivo, portanto, é resultado da maturação do gameta feminino (FIGUEIREDO et al., 2020) e tem a capacidade de receber os grãos de pólen, aderir, germinar e permitir a fertilização. Este período de receptividade está normalmente associado a antese floral (GALEN; PLOWRIGHT, 1987; SOUZA et al., 2016), sendo crucial para o sucesso da polinização e fertilização das plantas.

Durante esse período, o estigma torna-se hidratado e secreta várias enzimas, a exemplo das esterases e peroxidases na superfície do estigma, que são indicativos de receptividade, e ajudam a promover a germinação dos grãos de pólen (BROWN, 1989; DAFNI; MAUES, 1998; KULLOLI et al., 2010; SOUZA et al., 2016, 2020). Para a determinação da viabilidade, geralmente é analisada as atividades de enzimas específicas, como esterases, peroxidases, fosfatases e desidrogenases (GALEN; PLOWRIGHT, 1987; DAFNI; MAUÉS, 1998; CHEN et al., 2013; SOARES et al., 2017).

### **REFERÊNCIAS**

AGUIRRE-SANTORO, J., MICHELANGELI, F. A., STEVENSON, D. W. Molecular Phylogenetics Of the *Ronnbergia* Alliance (Bromeliaceae, Bromelioideae) And Insights Into Their Morphological Evolution. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 100, 2016.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. (Ed.). **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Editora Folha de Viçosa Ltda., 438p, 2003.

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. DE, SOARES, T. L., MORAIS, D. V., SOUZA, F. V. D. DE., & COSTA, M. A. P. DE C. Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31(4), p. 665–676, 2017.

BENITEZ-VIEYRA, S., ZANOTTI, C., & COCUCCI, A. A. Birds are better dispersers than bats of large-seeded fruits of two neotropical pioneer tree species. **Annals of botany**, v. 121(6), p. 1133-1143, 2018.

BENZING, D. H. The biology of the Bromeliads. Mad River Press, 1990.

BENZING, D. H. Bromeliaceae: Profile of an adaptative radiation. Cambridge: Cambridge University Press, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, p. 219-228, 2005.

BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Comparative ontogeny of bromeliaceous stigmas. In: LEINS, P.; TUCKET, S. C.; ENDRESS, P. K. (Ed.). **Aspects of floral development**. Berlin: Stuttgart, p. 191-204, 1988.

BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Stigma structure and variation in Bromeliaceae neglected taxonomic characters. **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, p. 110-132, 1989.

CANELA, M., SAZIMA, M. The Pollination of Bromelia *Antiacantha* (Bromeliaceae) In Southeastern Brazil: Ornithophilous Versus Melittophilous Features. **Plant Biology**, v. 4, p. 411-416, 2005.

CRISTO, M. F., OLIVEIRA-FILHO, A. T., & VIEIRA, M. C. Seed dispersal syndromes in Bromeliaceae in a Brazilian Atlantic forest fragment: effects of forest fragmentation and tree community structure. **Plant Ecology and Evolution**, v. 151, p. 52-64, 2018.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York Botanical Gardens, New York, p. 1262, 1981.

CHRISTENHUSZ M., CHASE M. Biogeographical patterns of plants in the Neotropics – dispersal rather than plate tectonics is most explanatory. **Botanical Journal of the Linnean Society** v. 171, p. 277–286, 2013.

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

DAFNI, A.; MAUÉS, M. M. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 11, p. 177-180, 1998.

DAFNI, A., KEVAN, P.G. & HUSBAND, B.C. Practical pollination biology. **Environquest Ltd**. Ontario, 2005.

DAVIES, T., MARK W., Environmental energy and evolutionary rates in flowering plants. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: **Biological Sciences**, v. 271, p. 2195-2200, 1998.

DAHLGREN, R.; CLIFFORD, T. H.; YEO, P. E. **The families of the monocotyledons**: Structure, evolution and taxonomy. Springer-Verlag. Berlin, p. 100, 1985.

DE VEGA, C., ORNELAS, J. F., & HERRERA, C. M. Reproductive biology in the Anthropocene: Drivers of floral traits and reproductive success in the context of global change. **Annals of Botany**, v. 128, p. 1-9, 2021.

DEL-CLARO, K., BERTO, V., & RÉU, W. Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). **Journal of Tropical Ecology**, v. 12, n. 6, p. 887-892. 1996.

DEL-CLARO, KLEBER; TOREZAN-SILINGARDI, HELENA. **Ecologia das Interações Plantas-Animais, uma abordagem ecológico evolutiva**, 2012.

DELLINGER, A., CHARTIER, M., FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, D., PENNEYS, D., ALVEAR, M., ALMEDA, F.; SCHÖNENBERGER, J. Beyond Buzz - Pollination – Departures From An Adaptive Plateau Lead To New Pollination Syndromes. **New Phytol**, v. 221, n. 2, p. 1136-1149, 2018.

FAGUNDES, N. F.; ARAUJO MARIATH, J. 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.

FERREIRA, A. S.; LOPES, F. P. D.; MONTEIRO, S. N.; SATYANARAYANA, K. G. Charpy impact resistance of alkali treated curaua reinforced polyester composites. **Matéria**, Rio de Janeiro, v. 15, p. 131-137, 2010.

FERREIRA, J. F.; SBRUZZI, D.; BARROS, K. V. G.; MACHADO, I. S.; TAMBOURGI, E. B. Purificação da enzima bromelina presente no curauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith) variedade roxa, por sistema bifásico aquoso PEG 4000/fosfato de potássio. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 13, p. 189-194, 2011.

- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATIONS OF THE UNITED NATIONS FAO DATABASE. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#data. Acesso realizado em 03 de junho de 2023.
- FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Lymania* R.W.Read. **REFLORA**. 2020. (continuamente atualizado). Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/. Acesso em: 01 Jan. 2023.
- FOLK, R.A.; SOLTIS, P.S.; SOLTIS, D.E.; GURALNICK, R. New prospects in the detection and comparative analysis of hybridization in the tree of life. **American Journal of Botany,** v. 105, n. 3, p. 364-375, 2018.
- 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.; BORGES, 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: Andrea Jakobsson; Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 315-397, 2013.
- FOURNIER, L.A. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. Turrialba, v.24, p.422-423, 1974.
- FRONTIER, S. Étude de la décroissance des valeurs propres dans une analyse enn composantes principales: Comparaison avec le moddle du bâton brisé. **Journal of experimental marine Biology and Ecology**, v. 25, n. 1, p. 67-75, 1976.
- GALEN, C.; PLOWRIGHT, R. C. Testing accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptivity. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 65, p. 107-111, 1987.
- GARDNER, C. S. Inferences about pollination in *Tillandsia* (Bromeliaceae). Selbyana, p. 76-87, 1986.
- GIVNISH, T. J.; 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.; RINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; GONSISKA, P. A.; JABAILY, R. S.; CRAYN, D. M.; SIMTH, J. A. C.; WINTER, K.; BROWN, G. K.; EVANS, T. M.; HOLST, B. K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insihgts from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, New York, v. 98, n. 5, p. 872-895, 2011.
- 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.

- GOLVEIA, T.M.Z.M.; PINHEIRO, F. Reciprocal crosses as a tool to evaluate the reproductive isolation in a Orchidaceae hybrid zone. **Revista da Biologia**, v. 14, n. 1, p. 17-23, 2015.
- GOUDA, E. J.; BUTCHER, D.; GOUDA, C. S. Encyclopaedia of Bromeliads, Version 4. **Utrecht University Botanic Gardens**. (continuamente atualizado). Disponível em: http://bromeliad.nl/encyclopedia/. Acesso em: 10 Jan. 2023.
- GOUVEIA, T. M. Z. M; 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**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.17-23, 2015.
- GÖTTLINGER T, LOHAUS G. Comparative analyses of the metabolite and ion concentrations in nectar, nectaries, and leaves of 36 bromeliads with different photosynthesis and pollinator types. **Plant Science**, 2022.
- HAFIDH, S., & FÁBIÁN, A. Stigma Receptivity and Its Importance in Crop Improvement. **Plants**, v.11, n. 8, p. 496, 2019.
- HALBRITTER, H. Morphologie und Systematische Bedeutung des Pollens der Bromeliaceae. **Grana**, Viena, v. 31, p. 197-212, 1992.
- HALBRITTER, H.; TILL, W. Morfologia Polínica do Complexo Nidularióide. In: PEREIRA, M. V. (Ed.) **Bromélias da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro: Salamandra, p. 114-121, 1998.
- HESSE, M., HALBRITTER, H. Evolutionary trends in pistil structure: lessons from the angiosperm fossil record. **New Phytologist**, v. 219, n. 4, p. 1170-1181, 2018.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). **The IUCN red list of threatened species**. Disponível em: < https://www.iucnredlist.org/> Acesso em 30 Janeiro de 2023.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant systematics**: a phylogenetic approach. Sunderland: Sinauer Associates. 2 ed. 2002.
- KAEHLER, M.; VARASSIN, I.G.; GOLDENBERG, R. Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, 2005.
- KREMER, D. O gênero *Tillandsia* I. (Bromeliaceae Tillandsioideae) no estado do paraná, brasil. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa- PR, Brasil, 165 p, 2011.
- KESSLER, Michael. Elevational gradients in species richness and endemism of selected plant groups in the central Bolivian Andes. **Plant ecology**, v. 149, n. 2, p. 181-193, 2000.
- KESSLER, M.; KRÖMER T. Patterns and ecological correlates of pollination modes among Bromeliad communities of Andean forests in Bolivia. **Plant Biology,** v. 2, p. 659-669, 2000.

- 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,** v. 192, n. 4, p. 592–608,2020.
- KRÖMER, T., KESSLER, M., LOHAUS, G., SCHMIDT-LEBUHN, A. Nectar Sugar Composition and Concentration In Relation To Pollination Syndromes In Bromeliaceae. **Plant Biology**, v. 10, n. 4, p. 502-511, 2008.
- KRÖMER, T., KESSLER, M. Distribution and flowering Ecology of bromeliads along two climatically contrasting elevational transects in the Bolivian Andes. **Biotropica**, v. 38, p. 183-195, 2006.
- 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.
- 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.
- LOWRY, D.B.; MODLISZEWSI, J.L.; WRIGHT, K.M.; WU, C.A.; WILLIS, J.H. The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. **Philosophical transactions of the Royal Society of London (Series B: Biological sciences)**, v. 363, n. 1506, p. 3009-3021, 2008.
- LUTHER. H. E. **An alphabetical list of Bromeliad binomials**. 13. ed. Sarasota, FL: The Marie Selby Botanical Gardens, The Bromeliad Society International, 2014.
- MACHADO, C.G.; SEMIR, J. Fenologia da floração e biologia floral de bromeliáceas ornitófilas de uma área da Mata Atlântica do Sudeste brasileiro. **Brazilian Journal of Botany,** v. 29, p. 163-174, 2006.
- MAJEED, SALMAN, ZAFAR, MUHAMMAD, AHMAD, MUSHTAQ, Morpho palynological and anatomical studies in desert cacti (*Opuntia dillenii* and Opuntia monacantha) using light and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, vol. 85, no 8, p. 2801-2812, 2020.
- MARTINELLI, G. Biologia reprodutiva de Bromeliaceae na Reserva ecológica de Macaé de Cima. In: LIMA, H.C.; GUEDES-BRUNI, R. R. (Eds.). Serra de Macaé de Cima: Diversidade florística e conservação em Mata Atlântica. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 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.; VIEIRA, C. M.; GONZALEZ, M.; LEITMAN, P.; PIRATININGA, A.; COSTA, A. F. D.; FORZZA, R. C. Bromeliaceae da Mata Atlântica brasileira: lista de

espécies, distribuição e conservação. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 59, p. 209-258, 2008.

MANETTI, L. M.; DELAPORTE, R. H.; LAVERDE, J. R. A. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, 2009.

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**, v. 289, n. 1, p. 57-65, 2010.

MEZ, C. Bromeliaceae. *In*: ENGLER, H. G. A. **Monographiae Phanerogamarum prodromi nunc continuation**. Paris: Sumptibus Masson & C., Parisiis, v. 9, p. 1-990, 1896.

MEZ, C. Bromeliaceae. *In:* VON MARTIUS, C.F.P.; EICHLER, A.W.; URBAIN, I. (Eds.) **Flora Brasiliensis**. Leipzig: München, v. 3, p. 173-674, 1891-1994.

MILET-PINHEIRO, P., COCCUCI, A. A., & SAZIMA, M. Pollination biology in bromeliads: a floristic approach. **Plant Biology**, v. 20, n. 1, p. 14-24, 2018.

MOREIRA, B.A. Palinotaxonomia da família Bromeliaceae do Estado de São Paulo. Tese de Doutorado, Instituto de Botânica, São Paulo, 2006.

POOL-CHALÉ, M., RAMÍREZ-MORILLO, I., CARNEVALI, G., HORNUNG-LEONI, CT. Reproductive biology of *Aechmea bracteata* (Sw.) Griseb. (Bromelioideae: Bromeliaceae). **Plant Biol** (Stuttg), v. 20, n. 1, p. 113-120, 2018.

READ, R.W. The 'Evolution' of a new genus, *Lymania* gen. nov. **Journal of the Bromeliad Society,** Orlando, v. 34, p. 199-216, 1984

RODRIGUEZ-PEREZ, J., KRÖMER, T., & LAUTENSCHLÄGER, U. **Scent glands in bromeliads: Morphological and functional diversity.** Flora-Morphology, Distribution, 2017.

RUDALL, P. Homologies of inferior ovaries and septal nectaries in monocotyledons. International Journal of Plant Sciences, v. 163, n. 2, p. 261-276, 2002.

SAJO, M.G., RUDALL, P.J., PRYCHID, C.J., Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. **Plant Syst**. Evol. v. 247, p. 215–231, 2004.

SAMPAIO, J. A. T.; PAGGI, G. M.; ZANELLA, C. M.; BRUXEL, M.; PALMA-SILVA, C.; GOETZE, M.; BÜTTOW, M. V.; BERED, E. F. Inbreeding depression in *Vriesea gigantea*, a perennial bromeliad from Southern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 169, p. 312-319, 2012.

- SAMPAIO, M. C.; PERISSÉ, L. E.; OLIVEIRA, G. A.; RIOS, R. I. The contrasting clonal architecture of two bromeliads from sandy coastal plains in Brazil. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, Jena, v. 197, n. 6, p. 443-451, 2002.
- SAMPAIO, M. C.; PICÓ, F. X.; SCARANO, F. R. Ramet demography of a nurse Bromeliad in Brazilian restingas. **American Journal of Botany**, v. 92,p. 674-681, 2005.
- SCARANO, F. R. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. **Annals of Botany** v. 90, p. 517-524, 2002.
- SAZIMA, M.; BUZATO, S.; SAZIMA, I. Bat-pollinated Flower Assemblages and Bat Visitors at Two Atlantic Forest Sites in Brazil. **Annals of Botany**, Oxford, v. 83, p. 705-712,1999.
- SAZIMA, M.; BUZATO, S.; SAZIMA, I. Polinização de *Vriesea* por morcegos no Sudeste brasileiro. **Bromélia**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 29-37, 1995.
- SILVA, I. V. D., SCATENA, V. L. Anatomia De Escapos De Espécies De Bromeliaceae Da Amazônia, Mato Grosso, Brasil. **Hoehnea**, v.1, n. 38, p. 51-59, 2011.
- SILVA, M., BARBOSA, B., FARIA, A. Reproductive Biology and Flower-visitor Interactions Of Two Bromeliad Species From The Brazilian Atlantic Forest. **Plecevo**, v.155, n. 1,p. 16-28, 2022.
- 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.
- SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae. Part 1). Flora **Neotropica Monograph**, New York, v. 14, p. 1-658, 1974.
- SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Tillandsioideae (Bromeliaceae. Part 2). Flora **Neotropica Monograph**, New York, v. 14, p. 663-1492, 1977.
- SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Bromelioideae (Bromeliaceae. Part 3). Flora **Neotropica Monograph**, New York, v. 14, p. 1493-2141, 1979.
- SOUSA, L. O. F.; SILVA, B. R.; SOUSA, R. C. O. S. *Hohenmea*, a new natural intergeneric hybrid in the Bromelioideae. **Journal of the Bromeliad Society,** Florida, v. 53, n. 2, p. 71-76, 2003.
- SOUSA, L. O. F; WENDT, T.; BROWN, G. K.; TUTHILL, D. E.; EVANS, T. M. Monophyly and phylogenetic relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on morphology and chloroplast DNA sequences. **Systematic Botany**, Notre Dame, v. 32, n. 2, p. 264-270, 2007.

- SOUSA, L. O. F.; WENDT, T. Taxonomy and conservation of the genus Lymania (Bromeliaceae) in the southern Bahian Atlantic Forest of Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 157, n. 1, p. 47-66, 2008.
- 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, C. P. F.; SOUZA, E. H.; LÊDO, C. A. S.; SOUZA, F. V. D. Evaluation of the micropropagation potential of curauá pineapple hybrids for fiber production. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 48, p. 290-297, 2018.
- SOUZA, E. H.; AONA, L.Y. S.; SOUZA, F. V. D.; LEME, E. M. C. *Lymania involucrata* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a new ornamental species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 489, n. 2, p. 209-215, 2021.
- SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V.; 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, p. 3067-3082, 2017a.
- 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, 2017b.
- PAGGI, G. M., PALMA-SILVA, C., BERED, F. Pollination by hummingbirds of vriesea gigantea (bromeliaceae) populations in southern brazil. **Rodriguésia**, v. 72, 2021.
- PALMA-SILVA, C., LEXER, C., PAGGI, G. M., BARBARÁ, T., BERED, F., BODANESE-ZANETTINI, M. H. Range-wide patterns of nuclear and chloroplast DNA diversity in Vriesea gigantea (Bromeliaceae), a neotropical forest species. **Heredity**, v. 103, n. 6, p. 503-512, 2009.
- 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**, v. 203,p. 118–125, 2016.
- VASCONCELLOS, V. C.; OLIVEIRA, J. M. S. Descrição morfológica e anatômica da estrutura floral em *Dyckia ibicuiensis Streh*l (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Iniciação Científica**, Itapetinga, v. 6, n. 6, p. 58-69, 2019.
- WANG, Y., LI, X., HUANG, L., WANG, Y., YANG, X., & LI, L. Transcriptional regulation of fruit ripening and cuticle formation in tomatoes. **Horticulture Research**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2021.
- 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, Sâo Paulo, v. 5, p. 39-161, 2007.

- 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.
- NARA, A. K., WEBBER, A. C. Floral biology and pollination of Aechmea Beeriana (Bromeliaceae) in vegetation along stream margins in Central Amazonia. **Acta Amazônica**, v. 32, p. 571-571, 2002.
- WENDT, T.; CANELA, M. B. F.; FARIA, A. P. G.; RIOS, R. I. Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany**, New York, v. 88, n. 10, p. 1760-1767, 2001.
- 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.
- WENDT, T.; COSER, T. S.; MATALLANA, G.; GUILHERME, F. A. G. An apparent lack of prezygotic reproductive isolation among 42 sympatric species of Bromeliaceae in southeastern Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, Viena, v. 275, p. 31-41, 2008.
- YOLANDE HESLOP-HARRISON, K. R. SHIVANNA, The Receptive Surface of the Angiosperm Stigma, **Annals of Botany**, v. 41, n. 6, Pages 1233–1258, 1977.
- ZANELLA, C. M.; PALMA-SILVA, C.; GOETZE, M.; BERED, F. Natural hybridization between two sympatric species of bromeliads from Atlantic Forest: evolutionary implications. In: World Congress on Bromeliaceae Evolution,1., 2015, Porto de Galinhas. **Anais** [...] Porto de Galinhas: Bromeliad Society International, 2015.
- ZANELLA, C.; JANKE, A.; PALMA-SILVA, C.; KALTCHUK-SANTOS; E., PINHEIRO, F.PAGGI, G; BERED, F. Genetics, Evolution and Conservation Of Bromeliaceae. **Genetic Molecular Biology**, v. 35, n 1., p. 1020-1026, 2012.
- ZAH, R., HISCHIER; R., LEÃO, A.L.; BRAUN, I. Curauá fibers in the automobile industry a sustainability assessment. J. **Cleaner Production** v. 15, p. 1032-1040, 2007.
- 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, v. 206, n. 8, p. 749–756, 2011.

# **CAPÍTULO I**

MORFOANATOMIA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE ESPÉCIES DE Lymania (BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO NORDESTE DO BRASIL E AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO<sup>1</sup>

MORFOANATOMIA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA DE ESPÉCIES DE Lymania (BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO NORDESTE DO BRASIL E AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Capítulo a ser ajustado e submetido a Scientia Horticulturae

RESUMO: Lymania pertence à família Bromeliaceae e atualmente possui dez espécies endêmicas no Nordeste do Brasil restritas ao domínio da Mata Atlântica. A maioria das espécies do gênero estão ameacadas de extinção ou ainda não foram avaliadas quanto ao seu grau de ameaça. O conhecimento da biologia floral e reprodutiva são importantes ferramentas para subsidiar estudos de conservação e manutenção das espécies nos ecossistemas, além de poder auxiliar na resolução de questões taxonômicas e para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento genético. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar morfoanatomicamente o conjunto estigma e estilete e avaliar a receptividade do estigma em diferentes estádios florais e metodologias de oito espécies de Lymania. As análises morfológicas foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura e as análises anatômicas utilizando microscópio de luz. A receptividade do estigma foi avaliada com peróxido de hidrogênio (3%) e α-naftil-acetato com tampão fosfato, acetona e fast blue B salt. Foram observados dois tipos de estigmas: conduplicado-espiral em L. azurea, L. brachycaulis, L. corallina, L. globosa, L. spiculata, L. involucrata, L. languida e simplesereto em L. smithii. Todas as espécies apresentaram estigma trífido, com epiderme uniestratificada, numerosos idioblastos contendo ráfides no parênquima fundamental e feixes vasculares individuais para cada carpelo. As duas metodologias para avaliar a receptividade do estigma foram eficientes, porém o teste de α-naftil acetato + fast Blue B salt obteve resultados mais precisos, permitindo a melhor identificação da área receptiva do estigma. Alta receptividade do estigma nos estádios de antese e pósantese foram observados e são ideais para deposição dos grãos de pólen e obtenção de sucesso na fertilização. O estudo morfoanatômico do estigma e estilete oferece informações importantes trazendo a compreensão dos diferentes tipos celulares e tecidos, permitindo o estudo dos órgãos vegetativos e reprodutivos, assim como a compreensão de estrutura e forma das espécies, sustentando os estudos taxonômicos de *Lymania* e os dados de receptividade do estigma podem subsidiar futuros estudos reprodutivos e de conservação para essas espécies.

Palavras-chave: Anatomia, bromélia; taxonomia; morfologia;

MORPHOANATOMY AND RECEPTIVITY OF STIGMA OF ENDANGERED Lymania (BROMELIACEAE) SPECIES ENDEMIC TO NORTHEAST BRAZIL

ABSTRACT: Lymania belongs to the Bromeliaceae family and currently has ten endemic species in Northeast Brazil restricted to the Atlantic Forest domain. Most species in the genus are threatened with extinction or have not yet been assessed for their degree of threat. Knowledge of floral and reproductive biology are important tools to support studies on the conservation and maintenance of species in ecosystems, in addition to being able to help resolve taxonomic issues and develop genetic improvement strategies. Therefore. the objective of this work morphoanatomically characterize the stigma and style set and evaluate the receptivity of the stigma in different floral stages and methodologies of eight Lymania species. Morphological analyzes were carried out using a scanning electron microscope and anatomical analyzes using a light microscope. Stigma receptivity was assessed with hydrogen peroxide (3%) and α-naphthyl-acetate with phosphate buffer, acetone and fast blue B salt. Two types of stigmas were observed: conduplicate-spiral in L. azurea. L. brachycaulis, L. corallina, L. globosa, L. spiculata, L. involucrata, L. languida and simple-erect in L. smithii. All species had a trifid stigma, with unistratified epidermis, numerous idioblasts containing raphides in the fundamental parenchyma and individual vascular bundles for each carpel. The two methodologies for evaluating stigma receptivity were efficient, however the α-naphthyl acetate + fast Blue B salt test obtained more accurate results, allowing better identification of the stigma receptive area. High stigma receptivity in the anthesis and post-anthesis stages was observed and is ideal for pollen grain deposition and successful fertilization. The morphoanatomical study of the stigma and style offers important information, bringing an understanding of the different cell types and tissues, allowing the study of vegetative and reproductive organs, as well as understanding the structure and shape of the species, supporting taxonomic studies of *Lymania* and data on Stigma receptivity can inform future reproductive and conservation studies for these species.

**Keywords:** Anatomy, bromeliad; taxonomy; morphology;

# INTRODUÇÃO

Lymania Read pertence à subfamília Bromelioideae e tem origem na Mata Atlântica do sul da Bahia (SOUZA et. al., 2007). O gênero possui uma combinação de pétalas livres, ovário ínfero, sulcado ou alado (READ, 1984; SOUSA; WENDT, 2008;

GOUDA et al., 2023) sendo composto por dez espécies, incluindo *Lymania azurea*, *L. alvimii*, *L. brachycaulis*, *L. corallina*, *L. globosa*, *L. involucrata*, *L. marantoides*, *L. languida*, *L. smithii* e *L. spiculata* (SOUZA et. al., 2007). Todas as espécies são endêmicas do Nordeste do Brasil, mais especificamente do Sul da Bahia e do domínio fitogeográfico da Mata Atlântica, com exceção de *L. smithii* que é encontrada em Pernambuco e Alagoas (SOUZA et al., 2021; FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2020).

A faixa geográfica restrita do gênero, coloca o gênero sob diferentes níveis de ameaça, como 'Criticamente Ameaçada'(CR), 'Em Perigo' (EP) a 'Vulnerável' (VU) (SOUSA; WENDT, 2008; FORZZA et al., 2013; IUCN 2020), devido a utilização predatória associada ao desmatamento e destruição dos seus habitats.

A compreensão sobre a biologia floral e reprodução das espécies são fundamentais para compreender as relações ecológicas e para a definição de técnicas apropriadas para a realização de cruzamentos controlados e posterior obtenção de sementes (SOUZA et al., 2016). Dentre os constituintes florais, o estigma tem relação direta com a adaptação das espécies a diferentes polinizadores, podendo afetar a eficiência da polinização, além de atuar como importante ferramenta como caráter diagnóstico para a taxonomia (GIVNISH et al., 2011). A forma e contorção do estigma foram utilizados por vários pesquisadores para distinguir espécies e gêneros em Bromelioideae, o que foi favorecido pelo uso de espécimes de coleções vivas (LEME, 2021).

Entre os anos de 1984 até 1989, foram caracterizados cinco tipos morfológicos de estigma em Bromeliaceae: simples-ereto, conduplicado em espiral, lâminaconvoluta, cupulado e coraliforme (BROWN; GILMARTIN, 1984, 1989). A partir de então foram descritos o conduplicado-pinatissectas, simples-ereto, simples-truncado, simples-pinatissectas, simples-patente, simples-dilatado, simples-imbricado, cilíndrico-distante, lâmina-convoluta I, lâmina-convoluta II, coraliforme, obcônicoconvoluto, guarda-chuva-convoluto, cupuliforme, urceolado e tubo-laminado (LEME; BROWN, 2004; LEME, 2007a, 2009; BARFUSS et al., 2016), principalmente para Tillandsioideae; cilíndrico-distante, simples-dilatado e simples-imbricado como novos tipos de estigma para o "Complexo Cryptantoide" em Bromelioideae (LEME et al., 2017), confirmaram a relevância taxonômica da morfologia do estigma como um caráter diagnóstico altamente adequado para caracterizar grupos monofiléticos (LEME, 2021).

Juntamente com a diversidade morfológica das Bromeliaceae, em particular as margens estigmáticas, estudos observaram a presença de papilas (BROWN; GILMARTIN, 1984, 1988, 1989; HESLOP-HARRISON; SHIVANNA, 1977; BARFUSS et al., 2016; LEME et al., 2017; SOUZA et al., 2020), que exibem também grande diversidade com margens crenadas, onduladas, lobadas, laciniadas (BROWN; GILMARTIN, 1984), que variam conforme a espécie, bem como a presença de cutícula ornamentada.

Outro fator importante para o sucesso reprodutivo é a receptividade do estigma que pode influenciar na formação de frutos e sementes. A receptividade do estigma é fundamental para determinação do melhor período para deposição dos grãos de pólen na flor e obter sucesso nos cruzamentos controlados (ALMEIDA, 2007; SOUZA et al., 2016). O estigma precisa estar receptivo para que ocorra a germinação do grão de pólen, emissão do tubo polínico e fecundação da oosfera, podendo variar entre as espécies, estádio do desenvolvimento floral e condições ambientais (HESLOP-HARRISON; SHIVANNA, 1977; KULLOLI et al., 2010).

A presença de enzimas, a exemplo das esterases e peroxidases na superfície do estigma tem sido considerada um indicativo de receptividade. Essas enzimas desempenham papel fundamental na germinação dos grãos de pólen, na penetração do tubo polínico no estigma e provavelmente nas respostas de incompatibilidade (KULLOLI et al., 2010; SOUZA et al., 2016). Portanto, os métodos usados para determinar a receptividade do estigma, geralmente, baseiam-se na identificação da atividade enzimática (HESLOP-HARRISON et al., 1975; DAFNI, 1992).

Portanto, associar estudos morfológicos do estigma e sua viabilidade, além de servir de ferramenta para classificação taxonômica auxilia nos estudos voltados para a reprodução e conservação, como podem subsidiar programas de melhoramento genético aumentando assim as chances de fertilização nas polinizações controladas (NACATA et al., 2019).

Neste sentido, este capítulo teve como objetivo, caracterizar morfoanatomicamente o estigma de oito espécies de *Lymania* (Bromeliaceae), bem como avaliar a receptividade do estigma identificando o mellhor periodo para a polinização e posterior fertilização, em diferentes estádios florais e metodologias.

### **MATERIAIS E MÉTODOS**

### Material vegetal e condições de crescimento

Foram estudadas oito espécies de *Lymania* endêmicas do Nordeste do Brasil (Tabela 1) coletadas em populações naturais. As espécies foram mantidas em cultivo no Banco de Germoplasma de Bromélias (BGB Bromélia) do Programa de Pósgraduação 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, Brasil. Os vouchers das espécies foram incorporados no Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) As coletas foram realizadas conforme autorização do SISBIO n. 69870-1 e as atividades realizadas estão devidamente cadastradas no SISGEN, sob a autorização A9E9F8D.

**Tabela 1.** Espécies de *Lymania* (Bromelioideae, Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil, incluindo o município de coleta e voucher do Herbário HURB, endemismo e status de ameaça.

Espécie	Município de Coleta	Endemismo	Status de Ameaça*	HURB (voucher)
L. azurea Leme	Una	Sul da Bahia	EN	18873
L. brachycaulis (E.Morren ex Baker) L.F.Sousa	Camamu	Sul da Bahia	EN	25954
L. corallina (Brongn. ex Beer) Read	Ilhéus, Itacaré, Uruçuca,	Sul da Bahia	EN	23965, 27852, 25953
L. globosa Leme	Igrapiúna, Ilhéus, Ituberá, Uruçuca,	Sul da Bahia	EN	25392, 30427, 30457, 27803
L. involucrata Leme & E.H.Souza	Igrapiúna	Sul da Bahia	CR	25815
L. languida Leme	Uruçuca	Sul da Bahia	NE	27855
L. smithii Read	Igrapiúna, Una, Uruçuca	Nordeste	NE	30435, 30416,18872
L. spiculata Leme & Forzza	Jussari	Sul da Bahia	CR	30618

<sup>\*</sup> Conforme IUCN (2023), Forzza et al. (2013) e Souza et al. (2021). EN = Em Perigo; CR = Criticamente Ameaçada; NE = Não avaliada.

# Morfoanatomia do Estigma

Para as análises morfológicas, as amostras dos estigmas/ estiletes foram coletadas na antese e fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965)

modificada glutaraldeído (2%), paraformaldeído (2%), CaCl<sub>2</sub> (0,001 M), tampão cacodilato de sódio (0,05 M), em pH 7,2], por 48 horas, em seguida desidratados em série etílica crescente.

As amostras foram secas ao ponto crítico (CPD 300 Baltec) por meio de CO2 líquido, montadas sobre suportes metálicos recobertos com fita adesiva carbonada e metalizadas com ouro por 180 segundos. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) de pressão variável LEO 435 VP (Carl Zeiss, Jena, Alemanha).

Para as análises anatômicas, os estigmas/ estiletes foram fixados na mesma solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) modificada, por uma semana, desidratadas em série etílica crescente, por seis horas, infiltradas e emblocadas utilizando-se o kit Historesina (hidroxietilmetacrilato, Leica Heidelberg).

A polimerização da resina foi feita em temperatura ambiente por 48 horas. Os cortes histológicos seriados (5 μm) foram realizados em micrótomo rotativo Leica RM 2155 (Leica, Nussloch, Alemanha), dispostos em lâminas histológicas e corados com fucsina ácida (0,1% p/v), seguido de azul de toluidina (0,05% p/v) (FEDER; O'BRIEN, 1968). Em seguida, os cortes histológicos foram analisados por meio das imagens obtidas em fotomicroscópio Axioskop 2 (Carl Zeiss, Jena, Alemanha).

Para a caracterização morfológica e anatômica utilizaram-se cinco estigmas de diferentes plantas, de cada espécie, e a nomenclatura utilizada foi descrita em BROWN; GILMARTIN (1984; 1989) e BARFFUS et al. (2016). Para as avaliações morfométricas foram utilizados os mesmos cinco estigmas de diferentes plantas, de cada espécie.

### Receptividade do Estigma

A receptividade do estigma foi avaliada em três estádios de desenvolvimento floral: pré-antese (botão - 18h), antese (7h30) e pós-antese (flor fechada após 24h), com três repetições cada. Foram usadas duas diferentes metodologias para avaliação do estigma: peróxido de hidrogênio (3%) e α-naftil-acetato com tampão fosfato, acetona e fast blue B salt.

Com extrema cautela os estigmas foram removidos das flores para que não ocasione lesões que possam influenciar no resultado e, imediatamente, imersos em peróxido de hidrogênio (3%) durante três minutos, para a observação da formação de

bolhas de ar, uma vez que a reação do peróxido de hidrogênio com a enzima peroxidase indica que o estigma está receptivo (ZEISLER, 1933).

Para a avaliação da receptividade utilizando a solução de α-naftil-acetato com tampγo fosfato, acetona e fast blue B salt, os estigmas foram imersos por cerca de cinco minutos, após lavados em água destilada. A atividade esterásica foi observada por meio da coloração escura na superfície estigmática e/ou papilas (PEARSE, 1972; DAFNI, 1992).

Nos dois métodos utilizados a receptividade estigmática foi estimada conferindo graus, conforme adaptado de Dafni e Maues (1998) e Souza et al. (2016): (-) sem reaηγο; (+) resposta positiva fraca; (++) resposta positiva forte; (+++) resposta positiva muito forte.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### Morfoanatomia do Estigma

Foram observados dois tipos de estigmas: conduplicado-espiral em *L. azurea* (Figuras 2A-E), *L. brachycaulis* (Figuras 2F-G), *L. corallina* (Figuras 2L-O), *L. globosa* (Figuras 2P-S), *L. spiculata* (Figuras 3I-L), *L. involucrata* (Figuras 2T-W), *L. languida* (Figuras 3A-D) e o tipo simples-ereto em *L. smithii* (Figuras 3E-H).

O estigma conduplicado-espiral (Figuras 2, 3A-D, 3I-L) é uma estrutura espiralada formada a partir dos três lóbulos do estigma e do estilete. É encontrada em muitas espécies de bromélias das subfamílias Bromelioideae, e Tillandsioideae e é caracterizada por uma série de dobras sobrepostas que formam uma estrutura tubular em direção helicoidal, presentes, por exemplo, nos gêneros *Gregbrownia, Jagrantia, Lutheria, Racinaea e Tillandsia* (BARFUSS et al., 2016).

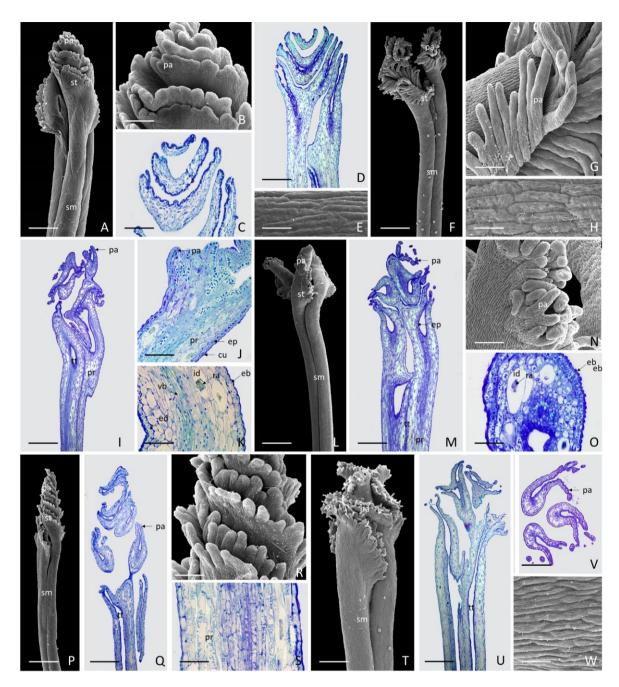
Esse tipo de estigma é caracterizado por ser trífido, formado por uma epiderme uniestratificada, parênquima fundamental caracterizado pela presença de numerosos idioblastos contendo ráfides, e três feixes vasculares, um para cada carpelo e é o mais comum das morfologias de estigma encontradas dentro da família, esta morfologia do estigma é única dentro de monocotiledôneas (BROWN, 1989).

Enquanto o estigma simples ereto (Figura 3E-H) é caracterizado por ter lóbulos livres, eretos a subespalhados, planos ao navicular, com margens inteiras para

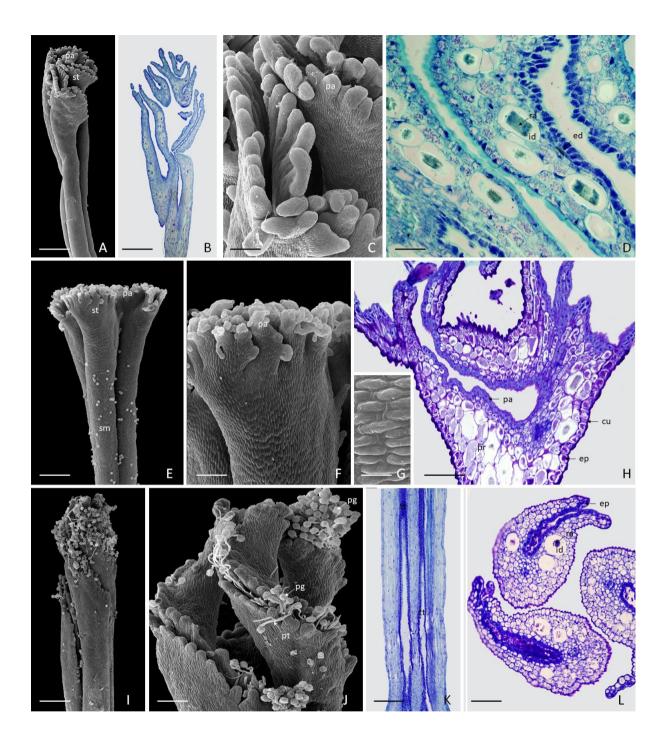
crenulado, reto a ligeiramente ondulado, papilar (BARFUSS et al., 2016) encontrada também em muitas espécies de Bromeliaceae.

As espécies *L. azurea*, *L. brachycaulis*, *L. corallina*, *L. globosa* e *L. involucrata* apresentam lobos estigmáticos recobertos por cutícula ornamentada (Figura 2E, 2H, 2W respectivamente) e fortemente contorcidos (Figura 2A, 2F, 2L, 2P, 2T).

O grau de retorcimento dos lobos estigmáticos no tipo conduplicado-espiral foi observado também no trabalho de Souza et al. (2016). Estes autores observaram diferentes graus de retorcimento entre as espécies de *Aechmea* estudadas e confirmaram essa característica na chave na taxonomia das espécies.



**Figura 2.** Morfoanatomia do estigma em Espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. Do tipo conduplicado-espiral em *L. azurea* (Figura 2A-E); *L. brachycaulis* (Figura 2F-K); *L. corallina* (Figura 2L-O); *L. globosa* (Figura 2P-S) e *L. involucrata* (Figura T-W). Características morfológicas observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (A, B, E, F, G, H, L, N, P, T, W) e secções anatômicas observadas em microscópio de luz (ML) (C, D, I, J, K, M, O, Q, S, U, V). em = estômato, sm = estigma, st = estilete, pa = lobos estigmáticos, pa = papilas, tt = tecido transmissor, id = idioblasto ra = ráfides. Barras: A, D, I, F, L, M, P, Q, ,R = 500 μm; B, C, J, K, G, N, O, R, S = 100 μm; T, U, V = 200 μm; H, W = 10 μm.



**Figura 3.** Morfoanatomia do estigma em Espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. Do tipo simples ereto para *L. smithii* (Figura 3E-H), e do tipo conduplicado-espiral para *L. languida* (Figura 3A-D), *L. spiculata* (Figura 3I-L). Características morfológicas observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (A, C, E, F, G, H, I, J) e secções anatômicas observadas em microscópio de luz (ML) (B, D, H, K, L). em = estômato, ep = epiderme, cu = cutícula, pg = pólen germinado, sm = estigma, st = estilete, pa = lobos estigmáticos, pa = papilas, tt = tecido transmissor, id = idioblasto ra = ráfides. Barras: A, B, E, I, K = 500 μm; C, D, F, H, J, L= 100 μm; E, J = 200 μm; G = 10 μm.

Os maiores valores para comprimento e diâmetro do estigma e estilete (cm) foram observados em *L.globosa*, *L. corallina* e *L. involucrata* e *L. languida* com médias de 1,31 cm, 1,59 cm, 1,09 cm e 1,12 cm respectivamente para comprimento, quando se trata de diâmetro de estigma *L. brachycaulis*, e *L. involucrata* tiveram as maiores médias. Para comprimento de estilete *L. corallina* e *L. brachycaulis* com 2,59 cm e 2,61 cm respectivamente quando se trata de diâmetro e 0,55 cm e 0,54 cm quando se trata de diâmetro de estilete. Em contrapartida, os menores valores observados para o comprimento e diâmetro de estigma foram de *L. smithii* com 0,62 cm para comprimento de estigma, e *L. spiculata* com 0,42 cm para diâmetro de estigma. Quando se trata de comprimento e diâmetro de estilete, *L. smithii* tem os menores valores, com 0,42 cm e 0,62 cm respectivamente.

As espécies *L. globosa, L. corallina* e *L. involucrata* possuem as maiores flores e, por consequência, maiores peças florais, características morfométricas que podem interferir diretamente na reprodução das espécies, principalmente em programas de melhoramento genético, uma vez que corresponde diretamente com o crescimento do tubo polínico do pistilo (GOPINATHAN et al., 1986.)

Da mesma forma, tem influência em condições naturais no sistema reprodutivo das espécies, uma vez que as anteras inclusas na corola ou no mesmo nível dos estigmas facilitam a autopolinização e exclusos necessitam obrigatoriamente de algum agente polinizador para haver fecundação (PARTON et al., 2001; SOUZA et al., 2016; 2017).

A interação entre os grãos de pólen e o tecido estigmático são influenciados diretamente pelo comprimento das papilas e profundidade do estigma, além de desempenhar um papel importante influenciando o reconhecimento do pólen, definindo a probabilidade, tempos de germinação do pólen, e chegada de tubos polínicos ao tecido estilar (EDLUND et al., 2004; CRUDEN, 2009), ou seja, o tamanho do estigma tem influência sobre a probabilidade de reprodução. Dessa forma, flores com aparelhos florais maiores como *L. brachycaulis, L. corallina* e *L. involucrata* tem maiores possibilidades de sucesso reprodutivo.

Para a coloração, as espécies apresentaram estigma de coloração bege, com exceção de *L. globosa* 

que apresenta estigma branco. Segundo Abrol (2012); Hirota et al. (2012), a coloração tem relação direta com a atração de polinizadores, uma vez que as cores

em flores, além do conjunto de atrativos florais, possuem a função de atrair polinizadores específicos.

**Tabela 2.** Caracteres morfológicos do estigma e estilete de 8 espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção.

Espécie	Tipo	Estigr	ma(cm)	Estile	- Cor		
LSpecie	Про	Comp. Diâm.		Comp.	Diâm.	00.	
L. azurea	CE	1,02 ± 0,09	$0,66 \pm 0,06$	1,68 ± 0,09	$0.39 \pm 0.05$	Bege	
L. brachycaulis	CE	$0.82 \pm 0.03$	$1,09 \pm 0,05$	2,59 ± 0,81	0,54 ± 0,11	Bege	
L. corallina	CE	1,59 ± 0,09	0,89 ± 0,01	2,61 ± 0,47	0,55 ± 0,12	Bege	
L. globosa	CE	1,31 ± 0,27	$0,65 \pm 0,04$	1,54 ±0,08	$0,48 \pm 0,04$	Branco	
L. involucrata	CE	1,09 ± 0,09	1,35 ± 0,04	1,68 ± 0,40	0,47 ± 0,12	Bege	
L. languida	CE	1,12 ± 0,02	$0,69 \pm 0,06$	1,36 ± 0,07	0,31 ± 0,02	Bege	
L. smithii	SE	0,62 ± 0,01	0,65 ± 0,02	$0,42 \pm 0,08$	$0.35 \pm 0.03$	Bege	
L. spiculata	CE	1,11 ± 0,07	$0,42 \pm 0,02$	1,50 ± 0,01	0,31 ± 0,02	Bege	

CE = Conduplicado-espiral; SE = Simples-ereto.

A variabilidade morfológica do estigma, incluindo o número e a forma dos lóbulos, a superfície e o tamanho das papilas, a presença ou ausência de uma região estigmatizada e a posição do estigma na flor, pode fornecer informações úteis para a taxonomia das espécies e para a compreensão da sua evolução. Além disso, a morfologia do estigma é adaptada para as diferentes condições de polinização, como a especialização de polinizadores, ou a prevenção da autopolinização (BROWN e GIMARTIN, 1984).

### Receptividade do Estigma

De forma geral, a maior receptividade do estigma das espécies de *Lymania* foi observada na antese e se prolongando até a pós-antese (24h após abertura da flor)

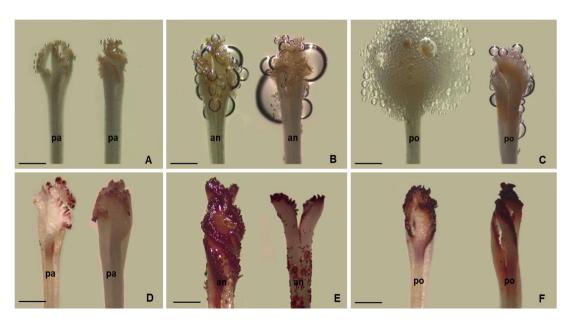
nas duas metodologias testadas (peróxido de hidrogênio e α-naftil-acetato + fast blue B salt) (Tabela 3, Figura 4). Em pré-antese, foi observada resposta positiva fraca (+) em todas as espécies com exceção de *L. corallina* com resposta positiva forte (++) em ambas as metodologias e sem reação (-) para *L. smithii* utilizando α-naftil-acetato + fast blue B salt. Na antese, a diferença foi observada apenas na intensidade da reação com resposta positiva forte (++) a resposta positiva muito forte (+++), independente da metodologia. A reação apenas se intensificou na pós-antese com resposta positiva muito forte (+++) para todas as espécies com exceção de *L. brachycaulis* no peróxido de hidrogênio com resposta positiva forte (++) (Tabela 3 e Figura 4).

A reação enzimática da receptividade com o peróxido de hidrogênio evidenciou a presença de bolhas de ar em intensidades variadas (Figuras 4A-C). Vale destacar que foram tomados os devidos cuidados na coleta dos pistilos para a avaliação da receptividade, uma vez que qualquer ferimento ou machucados permite o encadeamento das enzimas e consequentemente aumenta ou induz a presença de bolhas de ar, causando uma resposta positiva falsa. A receptividade ocorreu apenas nos lóbulos estigmáticos como pode ser observado, principalmente com α-naftilacetato + fast blue B salt apresentando uma coloração amarronzada (Figuras 4D-F).

**Tabela 3.** Receptividade do estigma nas 8 espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção, avaliada na pré-antese, antese e pós-antese por duas diferentes metodologias.

Espécies	Peróx	kido de Hidr	ogênio	α-naftil-acetato + fast blue B salt			
	Pré-antese	Antese	Pós-antese	Pré-antese	Antese	Pós- antese	
L. azurea	+	++	+++	+	++	+++	
L. brachycaulis	+	+++	++	+	+++	+++	
L. corallina	++	++	+++	++	+++	+++	
L. globosa	+	+++	+++	+	+++	+++	
L. involucrata	+	+++	+++	+	+++	+++	
L. languida	+	++	+++	+	++	+++	
L. smithii	+	+++	+++	-	+++	+++	
L. spiculata	+	++	+++	+	++	+++	

<sup>(-)</sup> sem reação; (+) resposta positiva fraca; (++) resposta positiva forte; (+++) resposta positiva muito forte. (Adaptado de Dafni e Maués, 1998).



**Figura 4.** Avaliação da receptividade do estigma de 8 espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção em diferentes metodologias. A) *L. brachycaulis* e *L. involucrata* em peróxido de hidrogênio; B) *L. brachycaulis* e *L. azurea* em peróxido de hidrogênio; C) *L. corallina* em peróxido de hidrogênio; D) *L. involucrata* em solução de a- naftil-acetato; E) *L. globosa* e

L. smithii em solução de a- naftil-acetato; F) L. involucrata e L. spiculata solução de a-naftil-acetato. pa = pré-antese, an = antese (8 h), po = pós-antese. Barras: 1 mm.

O tempo e a duração da receptividade ao estigma devem ser acompanhados para o sucesso reprodutivo das espécies e a receptividade dos estigmas é caracterizada pela análise da atividade de várias enzimas, como a peroxidase, esterase, desidrogenase e fosfatase estudadas em diferentes espécies (SOUZA et al., 2016). Facilitando a comunicação entre o pólen e o pistilo, a peroxidase e exsudados afrouxam os componentes da parede do estigma que permitem a entrada de tubos dos grãos de pólen para fertilizar o óvulo.

Pesquisas envolvendo a receptividade do estigma em espécies de Bromeliaceae realizadas por Parton et al. (2001) e Souza et al. (2016), constataram que a maior receptividade foi observada na antese para a maioria das espécies. Souza et al. (2016) relatam que em *Vriesea unilateralis* (Baker) Mez a antese é noturna e polinizada por morcego e sua maior receptividade ocorreu também à noite. Esses autores observaram que em algumas espécies, o estigma foi receptivo até dois dias após a antese e foi possível a germinação de grãos de pólen em número suficiente para a fertilização, corroborando os resultados obtidos para os testes realizados neste trabalho, quando a maioria das espécies estudadas ainda estão extremamente receptivas mesmo depois da antese. Parton et al. (2001) e Souza et al. (2016) relataram que mesmo quando o estigma está receptivo na pós-antese, o número de óvulos fertilizados é inferior à antese. Esses mesmos autores observaram em outras espécies, elevada porcentagem de germinação de grãos de pólen e índice de fertilização, tanto anterior, quanto no dia seguinte à antese.

Heslop-Harrison (1984; 2000) constataram que a receptividade do estigma está relacionada a diversos fatores que vão desde à estrutura básica do estigma, que consiste em três camadas principais: a cutícula, a parede celular e a matriz extracelular, até os vários tipos de células que compõem o estigma, incluindo células epidérmicas, células secretoras e tecidos transmissores. Onde as células secretoras produzem diferentes substâncias, como lipídios e proteínas, que ajudam a atrair, reter e fornecer nutrientes para o crescimento dos grãos de pólen, e essas interações estão extremamente ligadas ao sucesso da fertilização e consequente perpetuação da espécie.

### CONCLUSÃO

O estudo morfoanatômico do estigma e estilete oferece informações importantes para a taxonomia de *Lymania* e os dados de receptividade do estigma podem subsidiar futuros estudos reprodutivos e de conservação para essas espécies.

Foram observados dois tipos de estigmas conduplicado-espiral e simples-ereto para as diferentes espécies de *Lymania*. Todas as espécies apresentaram estigma trífido, com epiderme uniestratificada, numerosos idioblastos contendo ráfides no parênquima fundamental e feixes vasculares individuais para cada carpelo.

As duas metodologias para avaliar a receptividade do estigma foram eficientes, porém o teste de α-naftil acetato + fast Blue B salt obteve resultados mais precisos, permitindo a melhor identificação da área receptiva do estigma.

Alta receptividade do estigma nos estádios de antese e pós-antese foram observados e são ideais para deposição dos grãos de pólen e obtenção de sucesso na fertilização.

### **REFERÊNCIAS**

- ABROL, D. P. **Pollination Biology**: Biodiversity Conservation and Agricultural Production. Springer: India, p. 792, 2012.
- ALMEIDA, O. S. **Biologia floral, tendências reprodutivas e efeito alelopático da tulase (***Ocimum sanctum L.***)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, p. 88, 2007.
- APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, p. 1–20, 2016.
- 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.
- BENZING, D. H. Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge: **Cambridge University Press**, 2000.
- BONATO R., Negrelle M. Aspectos fenológicos e reprodutivos de Vriesea incurvata Gaudich (Bromeliaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 28, p. 95-102, 2006
- BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Comparative ontogeny of Bromeliaceae stigmas. In: LEINS, P.; TUCKET, S. C.; ENDRESS, P. K. (Ed.). **Aspects of floral development**. Berlin: Stuttgart. p. 191-204, 1988.
- BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Stigma structure and variation in Bromeliaceae neglected taxonomic characters. **Brittonia**, New York, v. 36, p. 364-374, 1984.
- DAFNI, A. **Pollination ecology**: a practical approach (the practical approach series). Oxford: Oxford University Press, 250 p., 1992.
- 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. 84-97, 2004.
- FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. **Plant microtechnique**: some principles and new methods. American Journal of Botany, New York, v. 55, p. 123-142, 1968.
- FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Lymania* R.W.Read. **REFLORA**. 2020. (continuamente atualizado). Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/. Acesso em: 01 Jan. 2023
- 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.; BORGES, 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: Andrea Jakobsson; Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 315-397, 2013.

- GIVNISH, T. J.; BARFUSS, M. H. J.; RINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; GONSISKA, P. A.; JABAILY, R. S.; CRAYN, D. M.; SIMTH, J. A. C.; WINTER, K.; BROWN, G. K.; EVANS, T. M.; HOLST, B. K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insihgts from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, New York, v. 98, n. 5, p. 872-895, 2011.
- GOUDA, E. J.; BUTCHER, D.; GOUDA, C. S. Encyclopaedia of Bromeliads, Version 4. **Utrecht University Botanic Gardens**. (continuamente atualizado). Disponível em: http://bromeliad.nl/encyclopedia/. Acesso em: 10 Jan, 2023.
- GOPINATHAN, M. C.; BABU, C. R.; SHIVANNA, K. R. Interspecific hybridization between rice bean (*Vigna umbellata*) and its wild relative (*V. minima*): Fertility-sterility relationships. **Euphytica**, Wageningen, v. 35, n. 3, p. 1017-1022,1986.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). **The IUCN red list of threatened species**. Disponível em: < https://www.iucnredlist.org/> Acesso em 30 Janeiro de 2023.
- KEARNS, C. A.; INOUYE, D. W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, p. 583, 1993.
- HESLOP-HARRISON, Y., REGER, B.J., HESLOP-HARRISON, J., The pollen-stigma interaction in the grasses. 6. The stigma ('silk') of *Zea mays* L. As host to the pollens of *Sorghum bicolor* (L.) Moench and *Pennisetum americanum* (L.) Leeke. Acta Bot. Neerl. 33, 205–227.interaction in perspective. **Annals of Botany.** v. 85, p. 5–13, 1984.
- HESLOP-HARRISON, K. R. SHIVANNA, The Receptive Surface of the Angiosperm Stigma, **Annals of Botany**, v. 41, n. 6, p. 1233–1258, 1977.
- HIROTA, S. K.; NITTA, K.; KIM, Y.; KATO, A.; KAWAKUBO, N.; YASUMOTO, A. A.; YAHARA, T. Relative role of flower color and scent on pollinator attraction: experimental tests using F1 and F2 hybrids of daylily and nightlily, **PLos One**, San Francisco, v. 7, p. 6, 2012.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, p. 137-138A, 1965.
- KEARNS, C. A.; INOUYE, D. W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, p. 583, 1993.
- 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, India, v. 1, p. 106-111, 2010.
- LEME, E. M. C.; MARIGO, L. C. **Bromélias na natureza**. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação Visual Ltda, 183 p., 1993.
- LEME, E. M. C.; SIQUEIRA-FILHO, J. A. Taxonomia das bromélias dos fragmentos de Mata Atlântica de Pernambuco e Alagoas. In: SIQUEIRA FILHO, J. A.; LEME, E.

- M. C. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste** Biodiversidade, conservação e suas Bromélias. Rio de Janeiro: Andréa Jakobsson Estúdio Editorial, p. 191-381., 2006.
- 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., 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**, v. 318, n. 1, p. 1-88, 2017.
- LEME, E. M. C. Improving taxa and character sampling to support generic and infrageneric status of *Alcantarea*. **Journal of the Bromeliad Society**, Orlando, v. 57, n. 1, p. 208–215, 2007.
- LEME, E. M. C. Notes on *Alcantarea*: A new medium-sized species and additions to A. roberto-kautskyi. **Journal of the Bromeliad Society**, Orlando, v. 59, n. 1, p. 19-27, 2009.
- LEME, E. M. C.; BROWN, G. K. Four new lithophytic *Vriesea* species (Tillandsioideae) from southeastern Brazil. **Vidalia**, Vicosa, v. 2, n. 1, p. 3-11, 2004.
- LEME, E. M., ZIZKA, G., PAULE, J., AGUIRRE-SANTORO, J., HELLER, S., RAMIREZ-MORILLO, I. M.,FORZZA, R. C. Re-evaluation of the Amazonian *Hylaeaicum* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on neglected morphological traits and molecular evidence. **Phytotaxa**, v. 499, n. 1, p. 1-60, 2021.
- LEE, J. Y., BAUM, S. F., ALVAREZ, J., PATEL, A., CHITWOOD, D. H., & BOWMAN, J. L. Activation of CRABS CLAW in the nectaries and carpels of *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 17, n. 1, p. 25-36, 2005.
- NACATA, G.; BELONSI, T. K.; GASPARINO, E. C. G.; ANDRADE, R. A. A. Pollen morphology and availability of pollen and stigma in *Syzygium* (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 41, n. 6, p. 485, 2019.
- PARTON, A., DONOGHUE, M. J., & REARDON, J. L. Size-dependent sex allocation in *Tillandsia stricta* (Bromeliaceae): resource availability hypothesis or sex allocation theory? **American Journal of Botany**, v. 88, n.2, p. 291-296, 2001a.
- PARTON, E.; VERVAEKE, I.; DEROOSE, R.; DE PROFT M. P. Interspecific and intergeneric fertilization barriers in Bromeliaceae. **Acta Horticulturae**, Melle, v. 552, p. 43-53, 2001b.
- PEARSE, A. G. E. **Histochemistry, theoretical and applied**. 2. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 631 p. ,1972.
- READ, R.W. The 'Evolution' of a new genus, *Lymania* gen. nov. **Journal of the Bromeliad Society,** Orlando, v. 34, p. 199-216, 1984

- SOUSA, L. O. F.; WENDT, T. Taxonomy and conservation of the genus *Lymania* (Bromeliaceae) in the southern Bahian Atlantic Forest of Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 157, n. 1, p. 47-66, 2008.
- SOUSA, L. O. F; WENDT, T.; BROWN, G. K.; TUTHILL, D. E.; EVANS, T. M. Monophyly and phylogenetic relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on morphology and chloroplast DNA sequences. **Systematic Botany**, Notre Dame, v. 32, n. 2, p. 264-270, 2007.
- SOUZA, E. H; VERSIEUX, L. M. SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; COSTA, M. A. P. C.; MARTINELLI, A. P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. **Scientia Horticulturae**, Wageningen, v. 223, n. 1, p. 53-61, 2017.
- 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.; AONA, L.Y. S.; SOUZA, F. V. D.; LEME, E. M. C. *Lymania involucrata* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a new ornamental species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 489, n. 2, p. 209-215, 2021.
- ZEISLER, M. Über die Abgrenzung des eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. **Beihefte zum Botanischen Centralblatt**, Jena, v. 58, p. 308-318, 1933.

### CAPÍTULO II

MORFOANATOMIA DO OVÁRIO, ÓVULO E NECTÁRIO DE ESPÉCIES DE Lymania (BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO NORDESTE DO BRASIL E AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO

MORFOANATOMIA DO OVÁRIO, ÓVULO E NECTÁRIO DE ESPÉCIES DE Lymania (BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO NORDESTE DO BRASIL E AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO

#### **RESUMO**

Bromeliaceae é uma família diversa dentro das monocotiledôneas, sendo conhecida principalmente pelo grande potencial ornamental, o que resulta em uma crescente demanda e exploração das espécies na natureza. O gênero Lymania é composto por dez espécies, endêmico do sul da Bahia, e a maioria das espécies estão ameacadas de extinção. Pela diversidade morfológica dos órgãos reprodutivos observada na família Bromeliaceae, os estudos morfoanatômicos são fundamentais na definição taxonômica, mas também nos sistemas reprodutivos e de conservação dessas espécies em seus habitats, e o estudo da morfoanatomia dos óvulos, ovários e nectários é essencial para a melhor compreensão da biologia reprodutiva e da dinâmica evolutiva das plantas. Assim, o objetivo deste capítulo foi a caracterização de um estudo comparativo nos padrões da morfologia do óvulo, ovário e nectário de sete espécies pertencentes ao gênero Lymania, utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia de Luz. Foi constatado que, todas as espécies estudadas apresentaram ovário ínfero, tricarpelar, trilocular com placentação axial, com o mesofilo formado por parênquima homogêneo de células isodiamétricas, pequenos espaços intercelulares e numerosos idioblastos contendo ráfides. Foi possível observar tricomas epidérmicos na parede do ovário em L. brachycaulis, L. globosa e L. involucrata. Os maiores números de óvulos por lóculo foram observados em L. brachycaulis (97), L. languida (93) e L. involucrata (87) e consequentemente essas espécies possuem um maior potencial em geração de sementes. Os resultados apresentados trazem contribuições importante para o estudo da taxonomia, morfologia, conservação, reprodução e melhoramento das espécies de Lymania endêmicas e ameaçadas de extinção.

PALAVRAS-CHAVE: Bromélia, Bromelioideae, reprodução; conservação; taxonomia.

MORPHOANATOMY OF THE OVARY, OVUM AND NECTARY OF Lymania SPECIES (BROMELIACEAE) ENDEMIC TO NORTHEAST BRAZIL AND THREATENED WITH EXTINCTION

#### **ABSTRACT**

Bromeliaceae is a diverse family within the monocotyledons, covering great diversity and known mainly for its great ornamental potential, which results in a growing demand and exploitation of the species in nature. The genus Lymania comprises ten species, and is endemic to southern Bahia, most of which are endangered. Due to the morphological diversity of the reproductive organs observed in the Bromeliaceae family, morphoanatomical studies are fundamental in the taxonomic definition, but also in the reproductive systems and conservationist species of these in their habitats, and the study of the morphoanatomy of the ovules, ovaries and nectaries is essential for a better understanding reproductive biology and evolutionary dynamics of plants. Thus, the objective of this chapter is the characterization of a comparative study of the morphology patterns of the ovule, ovary and nectary of seven species belonging to the genus Lymania, using Scanning Electron Microscopy and Light Microscopy. inferior ovary, tricarpellary, trilocular with axial placentation, with the mesophyll formed by homogeneous parenchyma of isodiametric cells, small intercellular spaces and numerous idioblasts containing raphides. It was possible to observe epidermal trichomes on the ovary wall in L. brachycaulis, L. globosa and L. involucrata. The highest numbers of ovules per locule were observed in L. brachycaulis (97), L. languida (93) and L. involucrata (87) and consequently these species have a greater potential for seed generation. The results presented bring important contributions to the study of taxonomy, morphology, conservation, reproduction and improvement of endemic and endangered Lymania species.

**KEYWORDS**: Bromeliad, Bromelioideae, reproduction; conservation; taxonomy.

# INTRODUÇÃO

Bromeliaceae é uma família diversa dentro das monocotiledôneas, abrangendo uma riqueza de variações morfológicas, fisiológicas, ecológicas que lhe permite grande amplitude bioclimática, por isso possui ampla distribuição que vai desde a regiões tropicais e subtropicais, podendo ser terrestres, epífitas ou rupícolas.

(BENZING, 2000; MARTINELLI et al., 2008; ZANELLA et al., 2012; MALES, 2016;). As bromélias são conhecidas pelo seu grande potencial com plantas ornamentais, este interesse resulta em uma crescente demanda e exploração das espécies na natureza.

Espécies do gênero *Lymania*, pertencente à subfamília Bromelioideae, são consideradas em sua maioria ameaçadas de extinção conforme o Livro Vermelho da Flora do Brasil (FORZZA et al., 2013; SOUZA et al., 2021) e International Union for Conservation of Nature (União Internacional para Conservação da Natureza) (IUCN, 2023). As demais espécies que não estão na lista de ameaça ainda não foram avaliadas quanto ao seu grau de ameaça.

Pela grande diversidade morfológica dos órgãos reprodutivos observada na família Bromeliaceae, os estudos morfoanatômicos são fundamentais na definição taxonômica, mas também nos sistemas reprodutivos e conservacionistas dessas espécies em seus habitats.

Porém, existe uma complexidade quanto às suas classificações, por exemplo, nos gêneros associados a ambientes florestais úmidos, tipicamente da Mata Atlântica, com características morfológicas, e também à arquitetura da inflorescência dessas espécies que permite o acúmulo de diferentes quantidades de água e que isso pode ser associado a mecanismos de proteção para componentes florais, principalmente os ovários, que ficam completamente submerso na água (LEME, 2000).

O óvulo, o ovário e o nectário são componentes essenciais das estruturas reprodutivas das plantas, desempenhando papéis cruciais no processo reprodutivo, incluindo a fertilização, desenvolvimento da semente e atração de polinizadores (COUTINHO et al., 2022). Compreender a morfoanatomia dessas estruturas reprodutivas é fundamental para compreender a biologia floral, os sistemas reprodutivos e consequentemente a conservação dessas espécies na natureza (GIVNISH et al., 2018).

Características anatômicas, especialmente as reprodutivas, têm sido usadas em estudos recentes na delimitação taxonômica em diferentes grupos, pois apresentam baixa plasticidade fenotípica comparada com caracteres vegetativos ( SAJO, 2004a, 2004b; MARIATH, 2010; FAGUNDES; MARIATH, 2010, 2014, 2015; KUHN, 2020).

Por exemplo, em Bromelioideae, o óvulo e caracteres ovarianos foram usados para indicar sinapomorfias e autapomorfias para alguns gêneros do complexo

"Nidularioides" (NOGUEIRA et al., 2015). Em Tillandsioideae, um amplo conjunto de dados foi investigado com relação à morfologia do óvulo e forneceu recursos valiosos para a circunscrição da subfamília (KUHN et al., 2016), assim como o zoneamento vertical do gineceu e a estrutura dos nectários septais (NOVIKOFF; ODINTSOVA, 2008; OLIVEIRA et al., 2020)

Adjacente ao óvulo, o ovário passa por complexas transformações com mudanças morfológicas e anatômicas que ocorrem dentro do ovário durante diferentes estágios de desenvolvimento do fruto. Esse invólucro protetor contribui para os mecanismos de dispersão de sementes e suprimento de nutrientes, variando entre as espécies de plantas e refletindo adaptações a diferentes mecanismos de polinização e contextos ecológicos (HORRES et al., 2000; MARTELO-SOLÓRZANO; LIDUEÑA-PERÉZ; CORREDOR-PRADO 2022).

O nectário representa um órgão secretor que produz néctar, com fluido açucarado que atrai e recompensa aos polinizadores. Com notável diversidade, o nectário, adapta-se a tipos específicos de polinizadores e condições ambientais, com as intrincadas interações entre a morfoanatomia das síndromes que englobam nectário e polinizador (KRÖMER et al., 2008). Em Bromeliaceae, a presença de nectários septais é uma das características florais mais marcantes, apesar de serem comuns nas monocotiledôneas em geral. No que diz respeito aos estudos dos nectários septais, poucos são os estudos anatômicos se considerarmos o grande número de espécies reconhecidas na família.

De modo geral, o estudo da morfoanatomia dos óvulos, ovários e nectários contribui para o entendimento da biologia reprodutiva e da dinâmica evolutiva das plantas. Neste sentido, este capítulo teve como objetivo, a caracterização de um estudo comparativo nos padrões da morfologia do óvulo, ovário e nectário de oito espécies pertencentes ao gênero *Lymania*, utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia de Luz.

#### MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal e condições de crescimento

Foram estudadas sete espécies de Lymania endêmicas do Nordeste do Brasil (Tabela 1). Todas as espécies foram coletadas em populações naturais, o voucher incorporado no Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) 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, Brasil. As coletas foram realizadas conforme autorização do SISBIO n. 69870-1 e as atividades realizadas estão devidamente cadastradas no SISGEN, sob a autorização A9E9F8D.

**Tabela 1.** Espécies de *Lymania* (Bromelioideae, Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil, incluindo o município de coleta e voucher do Herbário HURB, endemismo e status de ameaça.

Espécie	Município de Coleta	Endemismo	Status de Ameaça*	HURB (vouche)
L. azurea Leme	Una	Sul da Bahia	EN	18873
L. brachycaulis (E.Morren ex Baker) L.F.Sousa	Camamu	Sul da Bahia	EN	25954
L. corallina (Brongn. ex Beer) Read	Ilhéus, Itacaré, Uruçuca,	Sul da Bahia	EN	23965, 27852, 25953
L. globosa Leme	Igrapiúna, Ilhéus, Ituberá, Uruçuca,	Sul da Bahia	EN	25392, 30427, 30457, 27803
L. involucrata Leme & E.H.Souza	Igrapiúna	Sul da Bahia	CR	25815
L. languida Leme	Uruçuca	Sul da Bahia	NE	27855

L. marantoides (L.B.Sm.) Read	Ibicaraí	Sul da Bahia	NE	30616
L. smithii Read	Igrapiúna, Una, Uruçuca	Nordeste	NE	30435,
	ona, orașada			30416,18
				872

<sup>\*</sup> Conforme IUCN (2023), Forzza et al. (2013) e Souza et al. (2021). EN = Em Perigo; CR = Criticamente Ameaçada; NE = Não avaliada.

### Morfoanatomia do ovário, óvulo e nectário

Os pistilos foram coletados na antese e processados para microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz, dando enfoque principalmente aos óvulos, ovários e nectarios.

Para caracterização morfológica as estruturas foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), por 48 horas, desidratados em série etílica crescente (40-100 %). Em seguida as amostras foram secas ao ponto crítico através de CO2 e montadas sobre suportes metálicos e metalizadas com ouro. As imagens serão obtidas em microscópio eletrônico de varredura de pressão variável LEO 435 VP (Carl Zeiss) no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica (NAP/MEPA – ESALQ/USP).

Para as análises anatômicas as estruturas foram fixadas na mesma solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965), por uma semana, desidratadas em série etílica crescente (40-100 %), infiltradas e emblocadas utilizando-se o kit Historesina (Hidroxietilmetacrilato, Leica Heldelberg). A polimerização da resina foi feita à temperatura ambiente por 48 horas. Cortes histológicos seriados (4-5 μm) foram obtidos em micrótomo rotativo Leica (RM2155), dispostos em lâminas histológicas e corados com fucsina ácida (0,1 % p/v), seguido de azul de toluidina (0,05 % p/v). Os cortes histológicos foram analisados e fotografados em fotomicroscópio LMD 4500 (Leica).

Para a caracterização morfológica e anatômica foram utilizadas três repetições de diferentes plantas e a nomenclatura utilizada será baseada em Sajo et al. (2004a, 2004b) e Fagundes e Mariath (2010) para óvulos, ovários e nectários. O número de

óvulos foi quantificado em 10 flores, com observações diretas feitas em estereomicroscópio.

Para as avaliações morfométricas foram utilizados os mesmos pistilos de três diferentes plantas, de cada espécie.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### Morfoanatomia do ovário, óvulo e nectário

Todas as espécies de *Lymania* apresentaram ovário ínfero, tricarpelar, trilocular com placentação axial (Fig. 1I, 1L, 1M, 2A, 2B, 2G, 2J). Na face externa dos ovários é possível observar a presença de tricomas peltados (Fig. 2H, 3D), assim como observado nas espécies da subfamília Bromelioideae, *Nidularium procerum Lindm.*, *N. amazonicum* (Baker) Linden & E. Morren ex Lindm., *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb., *Aechmea ornata* Baker., *Neoregelia spectabilis* (T. Moore) L. B. Sm. (OLIVEIRA et al., 2020).

Característicos de Bromeliaceae, os tricomas peltados possuem um longo pedúnculo unisseriado, totalmente imerso na epiderme e uma expansão distal protetora perpendicular à este tecido (TOMLINSON, 1969), formado por pedicelo e ala, seu tamanho e forma podem variar entre os táxons ou até na mesma folha (SAJO, 2004a), são referidos na literatura como escamas foliares, têm sido considerados relevantes na adaptação dos diferentes táxons, são uma sinapomorfia para Bromeliaceae (GILMARTIN; BROWN 1987; BENZING, 2000), além de exercer funções diversas como absorver água e minerais (TOMLINSON, 1969), refletir a radiação solar, reduzir a transpiração e atrair polinizadores e dispersores de sementes (BENZING, 2000).

Foi observado apenas para *Lymania globosa* a presença de células guarda na parede do ovário, esse tipo de células não é tão comum de ser observado na família Bromeliaceae (TOMLINSON, 1969). Porém, Kuhn et al., (2020), no estudo sobre diversidade e tendências evolutivas do ovário e óvulo em Bromeliaceae, relata a presença de pares dispersos de guardas células em órgãos reprodutivos, que têm presença relatada no exocarpo de frutos das espécies Pitcairnioideae e Bromelioideae, e essa presença seria ainda das células presentes nesses orgãos.

Estômatos foram observados em *Lymania globosa* (Fig. 1I), *Lymania involucrata* (Fig. 3C) e *Lymania languida* (Fig.3I), posicionados em nível inferior ao das demais células epidérmicas.

Tricomas epidérmicos são exibidos na parede do ovário de *L. brachycaulis* (Fig. 1J), *L. globosa* (Fig. 2H), *L. involucrata* (Fig. 3D). Isso acontece pois, quando o tubo polínico é direcionado quimicamente, o tecido obturador é considerado secretor, pois ele se assemelha a tricomas. Às vezes, a presença de secreção pode ser observada nos lóculos dos ovários. O a composição química do exsudato varia, contendo polissacarídeos,proteínas e lipídios.(SINGH; WALLES, 1992; HUDÁK et al., 1993; HERRERO, 2000; OLIVEIRA et al., 2016).

Lymania brachycaulis, Lymania corallina e Lymania smithii apresentaram tecido colenquimatoso na parede do ovário, onde o seu espessamento, junto a presença de tricomas podem melhorar os mecanismos de proteção contra danos ao óvulo, como discutido por Kuhn et al., (2020).

Tabela 2. Caracteres morfológicos do ovário de sete espécies de Lymania (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção.

Epécie	Células guarda na parede do ovário	Tricomas na parede ovariana	Estômato na parede ovariana	Colênquima na parede do ovário	N. de camadas de epiderme no ovário		Epiderme com células alongadas
L. azurea	AUS	AUS	AUS	AUS	1	1	AUS
L. brachycaulis	AUS	PRE	AUS	PRE	1	1	AUS
L. corallina	AUS	AUS	AUS	PRE	1	1	AUS
L. globosa	PRE	AUS	PRE	AUS	2	2	AUS
L. involucrata	AUS	AUS	AUS	AUS	1	1	AUS
L. languida	AUS	AUS	AUS	AUS	1	1	AUS
L. smithii	AUS	PRE	AUS	PRE	1	1	AUS

Média (10 unidades) ± desvio padrão AUS = AUSENTE; PRE = Presente.

**Tabela 3.** Caracteres morfológicos do óvulo de sete espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção.

Espécie	Nº de Óvulos por Ióculo	Comp. do ovulo (µm)	Diâm. do ovulo (μm)	Apêndice calazar	Comp. do apêndice calazar (µm)	Espaço Intercelular na parede do ovário	N. de camadas tegumento externo	N. de camadas tegumento interno	Ráfides nos óvulos	N. de camadas do tecido parietal	N. de óvulos por ponto de fixação
L. azurea	35	0,31 ± 0,01	$0,17 \pm 0,01$	PRE	0,15 ± 0,01	PRE	2	2	AUS	1	1
L. brachycaulis	97	$0.32 \pm 0.03$	0,14 ± 0,07	PRE	0,16 ± 0,02	PRE	2	2	PRE	1	1
L. corallina	29	$0,26 \pm 0,05$	$0,15 \pm 0,02$	PRE	$0,19 \pm 0,02$	AUS	1	2	AUS	1	1
L. globosa	62	0,31 ± 0,02	$0,16 \pm 0,005$	PRE	0,14 ± 0,02	AUS	2	2	AUS	2	1
L. involucrata	87	$0,26 \pm 0,03$	$0,15 \pm 0,02$	PRE	0,18 ± 0,02	AUS	2	2	AUS	1	1
L. languida	93	0,25 ± 0,26	$0,15 \pm 0,03$	PRE	$0,13 \pm 0,15$	PRE	2	2	PRE	2	1
L. smithii	17	$0,23 \pm 0,05$	$0,13 \pm 0,02$	AUS	-	AUS	2	2	PRE	1	1

Média (10 unidades) ± desvio padrão AUS = AUSENTE; PRE = Presente.

Em corte transversal da parede do ovário é possível observar epiderme com células da superfície adaxial (Fig. 1B).

O mesofilo é formado por parênquima homogêneo com células isodiamétricas, pequenos espaços intercelulares exibem idioblastos contendo ráfides no mesofilo da parede do ovário/hipanto ginecial (Fig. 1B, 1J, 2B, 3B, 3K, 4B), principalmente concentrada na porção basal do ovário.

É possível observar ao longo do tempo, a documentação da presença de idioblastos contendo ráfides em órgãos vegetativos de Bromeliaceae. (KRAUSS, 1949; TOMLINSON, 1969). Kuhn et al., (2016) no estudo de ovário e óvulo em Bromeliaceae subfamília Tillandsioideae constata a presença de idioblastos contendo ráfides, assim como na espécie *Canistrum pickelii* da família Bromeliaceae. (KUHN et al., 2020). Sugere-se que presença de ráfides geralmente está associada a uma necessidade para neutralizar grandes quantidades de ácido oxálico produzido (BRIGHINA et al., 1984), além de tornar a planta menos palatável aos herbívoros (MAUSETH, 1988), porém há controvérsias, e para além de neutralizar, Gebura e Winiarczyk, (2016) apontam que o cálcio é essencial para o crescimento do gametófito masculino. Barabé et al. (2004) sugerem ainda que em Bromeliaceae, o néctar produzido por nectários septais, não partes florais, é oferecido como recompensa aos polinizadores, como os beija-flores. Neste caso, a presença de idioblastos com ráfides poderia atrair polinizadores devido ao brilho que conferem às partes florais.

Em Bromeliaceae, o tecido obturador possui uma paliçada formada com núcleos evidentes e fortemente corados, bem como a atividade secretora. Pode estar presente em camadas celulares únicas ou múltiplas (FAGUNDES; MARIATH, 2010; OLIVEIRA et al., 2016).

As espécies de *Lymania* geralmente têm muitos óvulos em cada lóculo, onde *L. brachycaulis, L. globosa, L. involucrata* e *L. languida* tiveram médias acima de 85 óvulos por lóculo, em contrapartida *L. smithii* teve a menor média, com apenas 17 óvulos por lóculo. A orientação dos óvulos, em relação ao eixo longitudinal do ovário, varia de orientado verticalmente na porção apical do oblíquo horário, a obliterado na porção basal do ovário, são anátropos, portanto, a região da micrópila se aproxima do tecido do obturador (Fig .1E, 1L, 1M, 2B, 2F, 2J, 3A, 3B, 3J, 4A, 4D, 4H).

Os óvulos são organizados em fileiras nos pontos de fixação da placenta que estão dispostos ao longo do ovário (Fig. 1I, 1L, 2G, 2J, 3J, 4A, 4D), apresentando um ponto de fixação da placenta para cada óvulo (Fig. 1E, 1G, 1N, 2E, 2L, 3E, 3L, 4E).

Apêndices calazais são observados em quase todas as espécies de *Lymania*, exceto em *Lymania smithii*, na posição acuminada, assim como para a espécie *N. amazonicum* da subfamilia Bromelioideae, e *V. platynema* para espécies de Tillandsoideae e em todas as espécies de Pitcairnoideae analisadas, no trabalho de Oliveira et al., (2020).

Os apêndices são estruturas formadas por um crescimento na epiderme e camadas subepidérmicas da região calazal, e é produto final da esse crescimento é uma protuberância inteira ou fimbriada (PALACÍ et al., 2004; SAJO et al., 2004b; FAGUNDES; MARIATH, 2014; MENDES et al., 2014; KUHN et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2020), estando presentes em Poales, especificamente, as Bromeliaceae, Rapateaceae e todas as Juncaceae (VENTURELLI; BOUMANM, 1988; SAJO et al., 2004B; ORIANI et al., 2012). Sugere-se que presença de apêndices calazais podem estar relacionadas a dispersão de sementes em espécies como *Vriesea* e *Tillandsia* (SMITH; DOWNS, 1977; PALACI et al., 2004).

Para diâmetro, comprimento do óvulo, e comprimento do apêndice calazar os resultados seguiram congruentes com o tamanho dos aparelhos florais de cada espécie de *Lymania*. Conforme a Tabela 5, *L. brachycaulis, L. azurea, L. corallina, L. globosa, L. involucrata* obtiveram os maiores resultados, com médias para diâmetro e comprimento de óvulos, maiores de que 0,16 cm e 0,32 cm respectivamente, enquanto *L. languida, L. spiculata*, os menores resultados, com médias entres 0,13 cm e 0,23 cm para diâmetro e comprimento de óvulo respectivamente.

Os tegumentos são variáveis em comprimento e espessura entre as espécies. Para todas as espécies estudadas de *Lymania* o tegumento externo é mais longo do que o tegumento interno (Fig. 1G, 1N, 2E, 3E).

O tegumento externo, denominado também de primina, é composto por duas camadas de células para todas as espécies estudadas de *Lymania* (Fig. 1H, 1P, 2K, 2M, 3G, 3M, 4J), exceto *L. corallina* que apresenta apenas uma camada. Para o tegumento interno denominado também de secundina todas as espécies estudadas possuem duas camadas de células (Fig. 1H, 1P, 2K, 2M, 3G, 3M, 4J), assim como documentado em Bromeliaceae, para as espécies *Brocchinia reducta* Baker, Brocchinioideae (SAJO et al., 2004); *Fosterella penduliflora* (CHWright) LBSm.

Pitcairnioideae (LAKSHMANAN, 1967); *V.carinata*, Tillandsioideae (SARTORI, 2008); *Puya floccosa* E.Morren ex Baker, Puyoideae (SAJO et al., 2004); *Pitcairnia* encholirioides LBSm., Pitcairnioideae (MENDES; COSTA; DE TONI, 2012); *Ananas* comosus (L.) Merr., Bromelioideae (WEE; RAO, 1974; RAO; WEE, 1979); em seis espécies de Bromelioideae (NOGUEIRA et al., 2015); e em *Billbergia nutans* H. Wendl. ex Regel, Bromelioideae (FAGUNDES; MARIATH, 2014), que possuem também duas duas camadas de células para o tegumento interno.

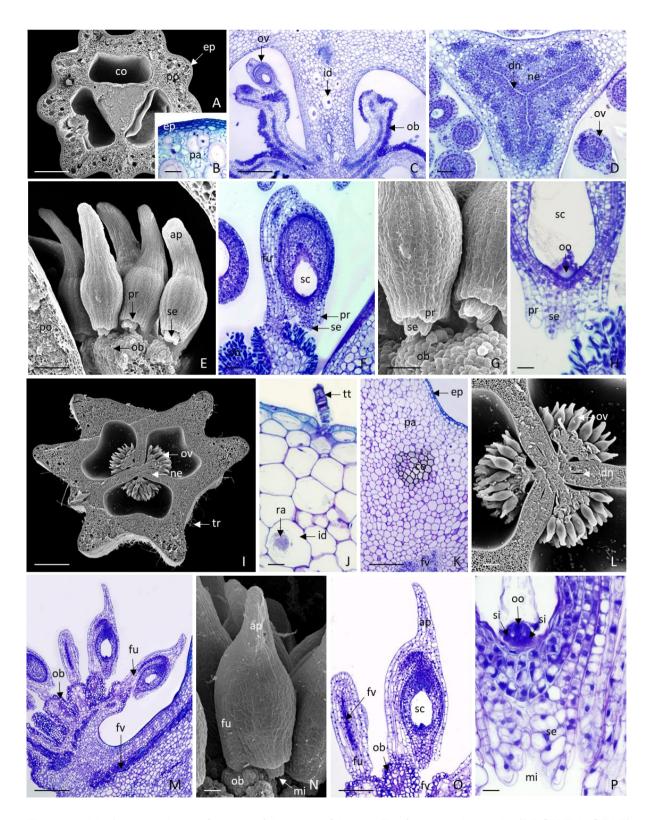


Figura 1. Morfoanatomia do óvulo, ovário e nectário em Espécies de Lymania (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. *L. azurea* Leme (Figura 1A-H), *L. brachycaulis (*E.Morren ex Baker*)* L.F.Sousa (Figura 1I-P). Características morfológicas observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (A, G, I, L, N) e secções anatômicas observadas em microscópio de luz (ML) (B, C, D, F, H, J, K, M, O, P). id = idioblasto, ra = ráfides, pr=primina, se= secondina, ca= apêndice calazar, sc= saco embrionário, dn= ducto nectarífero, ne= nectário, ov= óvulo, pa= tecido parenquimático, mi= micrópila. Barras: A, B, C, D, I, L = 500  $\mu$ m; E, F, M, O = 200  $\mu$ m; G, N = 100  $\mu$ m; H, J, P = 10  $\mu$ m

Na micrópila, o tecido parietal e a epiderme nucelar apresentam quantidades iguais de camadas celulares em cada espécie, apenas 1 camada para todas as espécies estudadas. (Fig. 1P), foi delineado espessura deste estrutura em uma visão evolutiva propondo que a forma reduzida (a condição de camada única) pode ser plesiomórfico em Bromeliaceae como foi observado no gênero divergente precoce *Brocchinia Schult.* f. (SAJO et al., 2004; GIVNISH et al., 2007, FAGUNDES; MARIATH, 2014.).

Não foram observadas espécies com presença de células alongadas, assim com sugerido por Rudall, 2002, quando afirma que este caráter está ausente em Bromeliaceae, porém a presença de epiderme nucelar alongada já foi observado nas três subfamílias tradicionais de Bromeliaceae (SAJO et al., 2004; FAGUNDES; MARIATH, 2014; NOGUEIRA et al., 2015).

Dentre os caracteres observados no gineceu, a ocorrência de nectários septais e do tecido obturador. Foi observado a presença de nectário septal, acima da divisão de três raios, que fecha pós-genitalmente no centro e forma três divisões separadas nos septos, os ductos nectaríferos (1B, 3B, 4B), com superfície secretora estão na parte mediana e superior do ovário corroborando com espécies estudadas de Bromelioideae, que possuem flores com ovário ínfero. Ocorrem nos septos do ovário, principalmente na zona hemissindicidiada do carpelo, com suas aberturas na parte basal da zona hemisimplicada (OLIVEIRA et al. 2016).

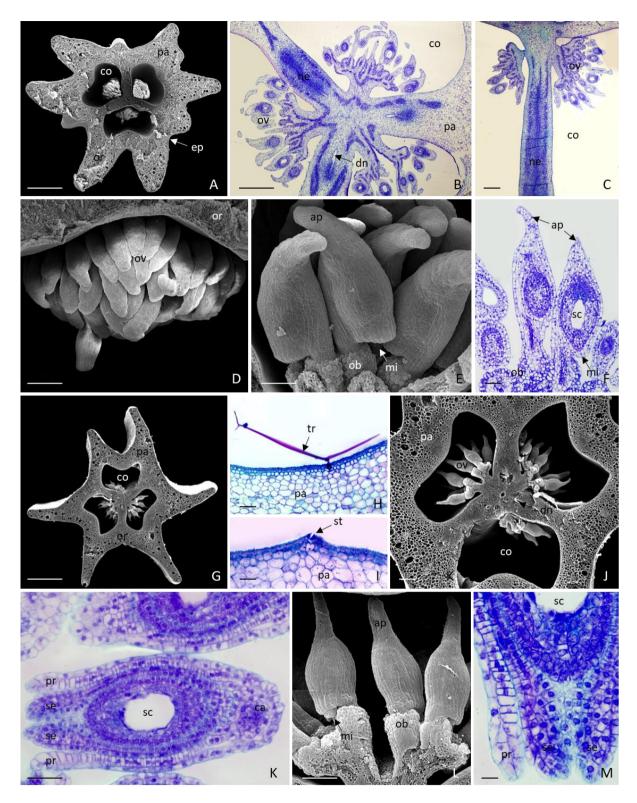


Figura 2. Morfoanatomia do óvulo, ovário e nectário em Espécies de Lymania (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. L. corallina (Brongn. ex Beer) Read (Figura 2A-F), L. globosa Leme (Figura 2G-M). Características morfológicas observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (A, D, E, G, J, L) e secções anatômicas observadas em microscópio de luz (ML) (B, C, F, H, I, K, M). id = idioblasto, ra = ráfides, pr=primina, se= secondina, ca= apêndice calazar, sc= saco embrionário, dn= ducto nectarífero, ne= nectário, ov= óvulo, pa= tecido parenquimático, mi= micrópila, st= estômato, tr= tricoma, ob= tecido obturador,co= loculo. Barras: A, B, C, G, J = 500  $\mu$ m; D, F, L = 100  $\mu$ m; E, K, M = 200  $\mu$ m; H, I = 10  $\mu$ m.

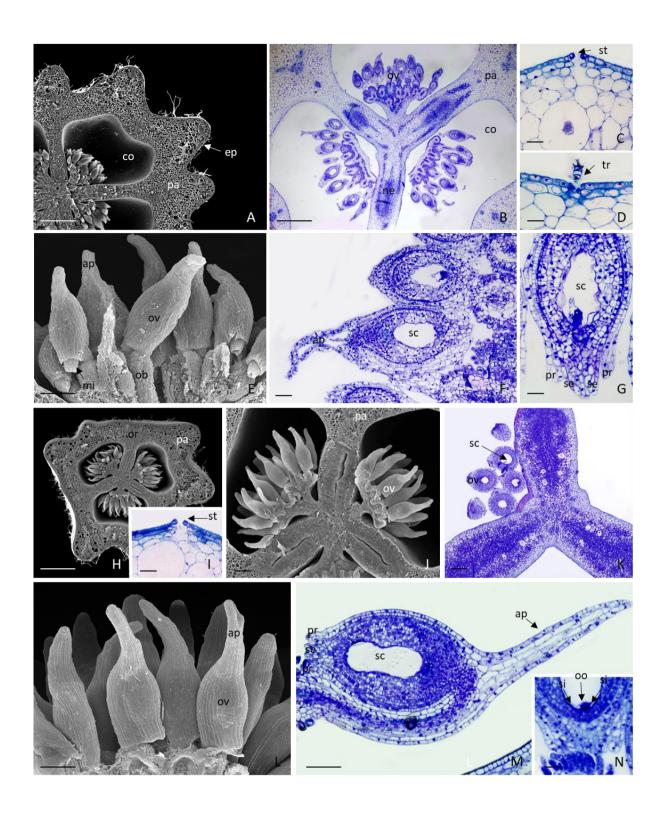


Figura 3. Morfoanatomia do óvulo, ovário e nectário em Espécies de Lymania (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. *L. involucrata* Leme & E.H.Souza (Figura 3A-G), *L. languida* Leme (Figura 3H-N). Características morfológicas observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (A, E, H, J, L) e secções anatômicas observadas em microscópio de luz (ML) (B, C, D, F, G, I, K, M, N). id = idioblasto, ra = ráfides, pr=primina, se= secondina, ca= apêndice calazar, sc= saco embrionário, dn= ducto nectarífero, ne= nectário, ov= óvulo, pa= tecido

parenquimático, mi= micrópila, ep= epiderme, st= estômato. Barras: A, B, H, J, K = 500  $\mu$ m; E, F, L, K = 200  $\mu$ m; G, M, N = 100  $\mu$ m; C, D, I = 10  $\mu$ m.

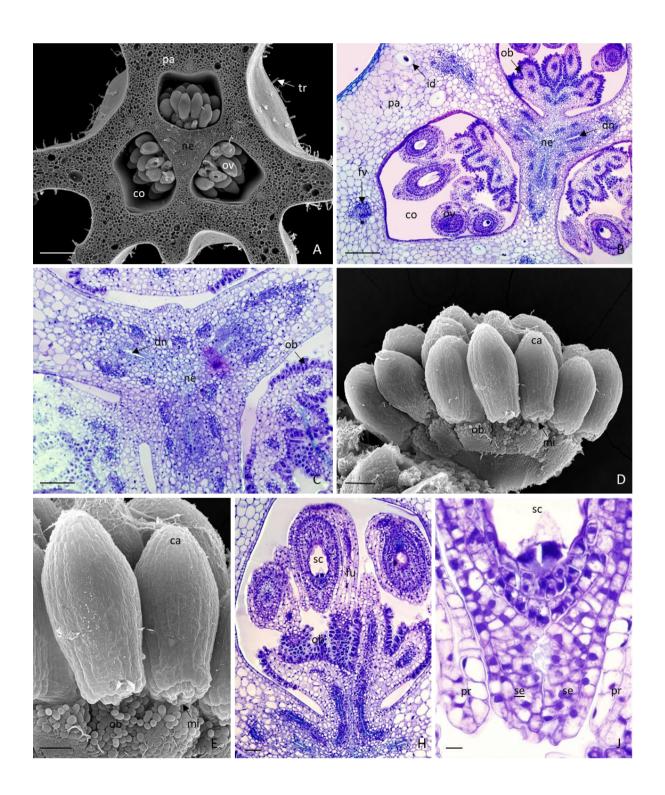


Figura 4. Morfoanatomia do óvulo, ovário e nectário em Espécies de Lymania (BROMELIACEAE) endêmicas do nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção. L. smithii Read (Figura 4A-K). Características morfológicas observadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (A, D, E) e secções anatômicas observadas em microscópio de luz (ML) (B, C, H, J). id = idioblasto, ra = ráfides,

pr=primina, se= secondina, ca= apêndice calazar, sc= saco embrionário, dn= ducto nectarífero, ne= nectário, ov= óvulo, pa= tecido parenquimático, mi= micrópila. Barras: A, B= 200 μm; C, D, E, H = 100 μm; J= 10 μm.

### **CONCLUSÃO**

Os maiores números de óvulos por lóculo foram observados em L. brachycaulis (97), L. languida (93) e L. involucrata (87) e consequentemente essas espécies possuem um maior potencial em geração de sementes.

Foi detectada nas 7 espécies estudadas, de caracteres comuns à família, como: presença de idioblastos na parede do ovário com ráfides de oxalato de cálcio, presença de tricomas.

Os nectários são septais acima da divisão de três raios, que fecha pósgenitalmente no centro e forma três divisões separadas nos septos, os ductos nectaríferos.

O presente trabalho esteve voltado para o estudo da morfoanatomia das flores do gênero *Lymania*, compreendendo todas as suas características específicas para sustentar os estudos taxonômicos, no sentido de caracteres dentro do gênero com mutias semelhanças, além da contribuição para a conservação, reprodução e melhoramento das espécies de *Lymania* endêmicas e ameaçadas de extinção.

### **REFERÊNCIAS**

BARABÉ, D., LACROIX, C., CHOTEAU, M., GIBERNAU, M., On the presence of extracellular calcium oxalate crystals on the inflorescence of Araceae. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 146, p. 181–190, 2004.

BARFUSS, M., SAMUEL, R., TILL, W., STUESSY, T. Phylogenetic Relationships In Subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) Based On Dna Sequence Data From Seven Plastid Regions. **American Journal of Botany,** v.92, n. 2, p. 337-351, 2005.

BASTOS, M., BASTOS, L., SOUZA, E., SOARES, T., MORAIS, D., SOUZA, F., COSTA, M. Floral and Reproductive Biology Of *Alcantarea Nahoumii* (Bromeliaceae), A Vulnerable Endemic Species Of The Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, n. 4, p. 665-676, 2017.

BENZING, D. H. Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge: **Cambridge University Press**, 2000.

- BRIGHINA, L., FIORDI, A.C.F., PALANDRI, M.R., Structural characteristics of mesophyllin some *Tillandsia* species. **Phytomorphology**, v. 34, p. 191–200, 1984.
- BOUCHENAK-KHELLADI, Y., MUASYA, A., LINDER, H. A Revised Evolutionary History Of Poales: Origins and Diversification. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 175, n. 1, p. 4-16, 2017.
- BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Comparative ontogeny of Bromeliaceae stigmas. In: LEINS, P.; TUCKET, S. C.; ENDRESS, P. K. **Aspects of floral development**. Berlin: Stuttgart. p. 191-204, 1988.
- BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Stigma structure and variation in Bromeliaceae neglected taxonomic characters. **Brittonia**, New York, v. 36, p. 364-374, 1984.
- BUZATO, S., SAZIMA, M., SAZIMA, I. Hummingbird-pollinated Floras At Three Atlantic Forest Sites. **Biotropica**, v. 32, p. 824-841, 2000.
- CANELA, M., SAZIMA, M. *Aechmea Pectinata*: a Hummingbird-dependent Bromeliad With Inconspicuous Flowers From The Rainforest In South-eastern Brazil. **Annals of Botany,** v. 92, p. 731-737, 2003.
- COELHO, F., DEBONI, L., LOPES, F. Density-dependent Reproductive and Vegetative Allocation In The Aquatic Plant (Araceae). **Revista de Biología Tropical**, v. 53, p. 369, 2014.
- COUTINHO, Í., FRANCINO, D., DALVI, V., MEIRA, R. Extrafloral Nectary Development, Characterization and Secretion In *chamaecrista debilis* And *chamaecrista desvauxii* Var. langsdorfii (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Nordic Journal of Botany**, v. 7, 2022.
- CRAYN, D., WINTER, K., SMITH, J. 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.
- DELLINGER, A., CHARTIER, M., FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, D., PENNEYS, D., ALVEAR, M., ALMEDA, F., SCHÖNENBERGER, J. Beyond Buzz-pollination Departures From An Adaptive Plateau Lead To New Pollination Syndromes. **New Phytol**, v. 221, p. 1136-1149, 2018.
- DONOGHUE, M., SANDERSON, M. Confluence, Synnovation, and Depauperons In Plant Diversification. **New Phytologist**, v. 207, p. 260-274, 2015.
- FAGUNDES, N., MARIATH, J. Morphoanatomy and Ontogeny Of Fruit In Bromeliaceae Species. **Acta Botanica Brasilica.**, v. 3, n. 24, p. 765-779, 2010.
- FAGUNDES, N., MARIATH, J.., Ovule ontogeny in Billbergia nutans in the evolutionary context of Bromeliaceae (Poales). **Plant Systematics and Evolution,** v. 300, p. 1323–1336, 2014.

- 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.; BORGES, 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: Andrea Jakobsson; Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 315-397, 2013.
- GEBURA, J., WINIARCZYK, K. A study on calcium oxalate crystals in *Tinantia* anomala (Commelinaceae) with special reference to ultrastructural changes during anther development. **Journal Plant Research**, v. 129, p. 685–695, 2016.
- GIVNISH, T., BARFUSS, M., EE, B., RIINA, R., SCHULTE, K., HORRES, R., SYTSMA, K. Adaptive Radiation, Correlated and Contingent Evolution, And Net Species Diversification In Bromeliaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 71, p. 55-78, 2014.
- GIVNISH, T., BARFUSS, M., EE, B., RIINA, R., SCHULTE, K., HORRES, R., SYTSMA, K. Phylogeny, Adaptive Radiation, and Historical Biogeography In Bromeliaceae: Insights From An Eight-locus Plastid Phylogeny. **American Journal of Botany**, v.5, n. 98, p. 872-895, 2001.
- GIVNISH, T., MILLAM, K., BERRY, P., SYTSMA, K. **Phylogeny, Adaptive Radiation, and Historical Biogeography Of Bromeliaceae** Inferred From Ndhf Sequence Data. aliso, v.1, p. 3-26, 2007.
- GIVNISH, T., ZULUAGA, A., SPALINK, D., GOMEZ, M., LAM, V., SAARELA, J., ANÉ, C. Monocot Plastid Phylogenomics, Timeline, Net Rates Of Species Diversification, the Power Of Multi-gene Analyses, And A Functional Model For The Origin Of Monocots. **Am J Bot,** v. 11 2018.
- GIVNISH, T.J., AMES, M., MCNEAL, J.R., MCKAIN, M.R., STEELE, P.R., DE PAMPHILIS, C.W., GRAHAM, S.W., PIRES, J.C., STEVENSON, D.W., ZOMLEFER, W.B., BRIGGS, B.G., DUVALL, M.R., MOORE, M.J., HEANEY, J.M., SOLTIS, D.E., SOLTIS, P.S., THIELE, K., LEEBENS-MACK, J.H., Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. **Annals of the Missouri Botanical Garden,** Gard. v. 97,p. 584–616, 2010.
- GIVNISH, T.J., BARFUSS, M.H.J., VAN, E.E.B., RIINA, R., SCHULTE, K., HORRES, R., GONSISKA, P.A., JABAILY, R.S., CRAYAN, M., SMITH, 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., Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany,** v. 98, p. 1–24, 2011.
- GIVNISH, T.J., MILLAN, K.C., BERRY, P.E., SYSTMA, K.J., Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. **Aliso**, v. 23, p. 3–26, 2007.

HORRES, R., ZIZKA, G., KAHL, G., WEISING, K. Molecular Phylogenetics Of Bromeliaceae: Evidence From Trnl(uaa) Intron Sequences Of the Chloroplast Genome. **Plant Biology**, v.3, n. 2, p. 306-315, 2000.

JAMIE MALES, Think tank: water relations of Bromeliaceae in their evolutionary context, **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 3, p. 415–440, 2016.

LAKSHMANAN, K.K., Embryological studies in the bromeliaceae. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, India, v. 65, p. 49–55, 1967.

KRAUSS, B.H., Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L.). Merr. **Botanical Gazette**, v. 110, p. 333–404, 1949.

KRÖMER, T., KESSLER, M., LOHAUS, G., & SCHMIDT-LEBUHN, A. Nectar Sugar Composition and Concentration In Relation To Pollination Syndromes In Bromeliaceae. **Plant Biology,** v. 10, n.4, p. 502-511, 2008.

KUHN, S. A., NOGUEIRA, F. M., CHAUVEAU, O., & DE ARAUJO MARIATH, J. E. Diversity and evolutionary trends of the ovary and ovule in Bromeliaceae. **Flora**, v. 272, p. 151-691, 2020.

KUHN, S.A., NOGUEIRA, F.M., FAGUNDES, N.F., MARIATH, J.E.A., Morphoanatomy of the ovary and the ovule in Bromeliaceae subfamily Tillandsoideae and its systematic relevance. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 181, p. 343–361, 2016.

LEME, E.M.C., 2000. **Nidularium- Bromélias Na Mata Atlântica.** Sextante, Rio de Janeiro.

MAUSETH, J.D., Plant Anatomy. Benjamin/ Cummings, Menlo Park, California, 1988.

MARTELO-SOLÓRZANO, A., LIDUEÑA-PERÉZ, K., & CORREDOR-PRADO, J. Seed's Morpho-anatomy and Post-seminal Development Of Bromeliaceae From Tropical Dry Forest. **Rodriguésia**, v. 73, 2022.

MARTINELLI, G., VIEIRA, C. M., GONZALEZ, M., LEITMAN, P., PIRATININGA, A.; COSTA, A. F. D.; FORZZA, R. C. Bromeliaceae da Mata Atlântica brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 59, p. 209-258, 2008.

MENDES, S.P., MASTROBERTI, A.A., MARIATH, J.E.A., VIEIRA, R.C., DE TONI, K.V., Ovule and female gametophyte development in the Bromeliaceae: an embryological study of *Pitcairnia encholirioides*. **Botany**, v. 92, p. 883–894, 2014.

NOGUEIRA, F.N., FAGUNDES, N.F., KUHN, S.A., FREGONEZI, J.N., MARIATH, J.E.A., Ovary and ovule anatomy in the Nidularioid Complex and its taxonomic utility. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, p. 66–77, 2015.

NOVIKOFF, A.V., ODINTSOVA, A., Some aspects of comparative gynoecium morphology in three bromeliad species. **Wulfenia**, v. 15,p. 13–24, 2008.

- ODINTSOVA, A., FISHCHUK, O., SULBORSKA, A., The gynoecium structure in *dracena fragans* (L.) Ker Gawl., *sansevieria parva* N.E. Brown and *s. trifasciata* Prain (Asparagaceae) with special emphasis on the structure of the septal nectary. **Revista Acta Agronómica**, v. 66, n. 4, p. 55–64, 2013.
- OLIVEIRA, F. M., OLIVEIRA, F. C., RODRIGUES, A. C., LUSA, M. G., & MELO-DE-PINNA, G. F. Androecium and gynoecium anatomy of Bromeliaceae species. **Flora**, v. 263, 2020.
- ORIANI, A., SCATENA, V.L., Floral anatomy of xyrids (Poales): contribution to their reproductive biology, taxonomy, and phylogeny. Int. J. **Plasma Science and Engineering**, v. 173, p. 767–779, 2012.
- PALACÍ, C.A., BROWN, G.K., TUTHILL, D.E., The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae, Tillandoideae). **Systematic Botany,** v. 29, p. 518–527, 2004.
- RAO, A.N., WEE, Y.C., Embryology of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. **New Phytologist,** v. 83, p. 485–497, 1979.
- SAJO, M.G., FURNESS, C.A., PRYCHID, C.J., RUDALL, P.J., 2005. Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. **Grana**, v. 44,p. 65–74, 2005.
- SAJO, M.G., PRYCHID, C.J., RUDALL, P.J., Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. **Kew Bull.**v. 59, p. 261–267, 2004b.
- SAJO, M.G., RUDALL, P., Morphological evolution in the graminid clade :comparative floral anatomy of the grass relatives Flagellariaceae and Joinvilleaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 170, p. 393–404, 2012.
- SAJO, M.G., RUDALL, P.J., PRYCHID, C.J., 2004a. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. **Plant Systematics and Evolution**, v. 247, p. 215–231, 2004a.
- SARTORI, J.S., **Desenvolvimento floral em Vriesea carinata Wawra (Tillandsioideae–Bromeliaceae)**. PhD Thesis. Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- SOUZA, E. H.; AONA, L.Y. S.; SOUZA, F. V. D.; LEME, E. M. C. *Lymania involucrata* (Bromeliaceae: Bromelioideae), a new ornamental species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, Auckland, v. 489, n. 2, p. 209-215, 2021.
- TOMLINSON, P.B., Comelinales Zingiberales. In: Metcalfe, C.R. (Ed.), **Anatomy of the Monocotyledons: III**. Claredon Press, Oxford, p. 193–294, 1969.
- UCN (International Union for Conservation of Nature). **The IUCN red list of threatened species**. Disponível em: < https://www.iucnredlist.org/> Acesso em 30 Janeiro de 2023.

VASCONCELLOS-NETO, J., ROMERO, G., SANTOS, A., DIPPENAAR-SCHOEMAN, A. Associations Of Spiders Of the Genus *Peucetia* (Oxyopidae) With Plants Bearing Glandular Hairs. **Biotropica**, v. 39, n. 2,p. 221-226, 2007.

VENTURELLI, M., BOUMAN, F., Development of ovule and seed in Rapateaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 97, p. 267–294, 1988.

ZANELLA, C., JANKE, A., PALMA-SILVA, C., KALTCHUK-SANTOS, E., PINHEIRO, F., PAGGI, G., BERED, F. Genetics, Evolution and Conservation Of Bromeliaceae. **Genetics and Molecular Biolog.**, v. 35, n. 2, p. 1020-1026, 2012.

WEE, Y.C., RAO, A.N., Gametophytes and seed development in pineapple. **Current Science**, v. 43, p. 171–173, 1974.