

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

Sofia Aumond Kuhn

**Anatomia e morfologia comparada do gineceu e androceu em
Tillandsioideae Harms (Bromeliaceae) e suas tendências evolutivas
na família**

Porto Alegre – RS

2015

Sofia Aumond Kuhn

**Anatomia e morfologia comparada do gineceu e androceu em
Tillandsioideae Harms (Bromeliaceae) e suas tendências evolutivas
na família**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Botânica.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ernesto de A. Mariath

Porto Alegre

2015

...o som que ao ouvido do estudioso da natureza parece ecoar continuamente de todas as partes de suas obras, é - tempo! tempo! tempo!

(George P. Scrope)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Jorge Ernesto de Araujo Mariath, que acompanha meus passos a tantos anos, agradeço por ser fonte motivadora na aprendizagem da ciência das plantas, por ser tão presente, dedicado e por repassar seu grande comprometimento e entusiasmo pela a pesquisa e pela a educação.

Aos colegas de laboratório, Bruna Barato, Carolina Breitsameter, Daniel Ayub, Danilo Rocha, Jeferson Fregonezi, Juca San Martin, Juliana Garcia, Juliana Troleis, Marcos Gaeta, Nadine Koelln e Vanessa Rubio, pela ajuda sempre que necessária e pela amizade que torna o dia a dia tão prazeroso. Em especial às colegas e amigas Fernanda Nogueira e Natividad Fagundes, pelo grande apoio em todas as etapas desse trabalho.

Aos professores do laboratório, por estarem sempre dispostos a ajudar nas dificuldades enfrentadas ao decorrer do trabalho.

Ao Marie Selby Botanical Garden e sua equipe, por me receber e ceder a maior parte do material utilizado nesse trabalho. Em especial ao Bruce Holst, por me fazer sentir parte do grupo dentro da Instituição e pelos convites de saídas a campo no maravilhoso Everglades e a Laurie Birch, por me guiar sempre que necessário dentro dos Jardins.

À Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul e à RPPN Usina Frei Caneca (PE) e seus funcionários, pela autorização de coleta de plantas.

À CAPES, pela bolsa de doutorado concedida no Brasil e a bolsa de Doutorado sanduíche no exterior os quais foram de fundamental importância para o trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul que possibilitaram que o desenvolvimento desse estudo.

Às pessoas que se tornaram minha família em Sarasota, Wade Collier, Carol Collier e Gail Fagan, pelo carinho, companhia, apoio, ajuda com o idioma e pelos momentos de diversão.

Aos meus pais Elisabeth Aumond Kuhn e Erni Ernesto Kuhn, por me apoiarem incondicionalmente e às minhas irmãs Eugenia Aumond Kuhn, Isadora Aumond Kuhn e Lidia Aumond Kuhn, pelo carinho e ajuda constante durante toda a trajetória.

Ao Pablo, pelo carinho, compreensão e principalmente pelo apoio durante os longos sete meses que estive distante. Agradeço por estar sempre tão presente e me encorajar e motivar a seguir meus sonhos.

PREFÁCIO

A presente tese está organizada na forma de capítulos. O Capítulo 1, Capítulo 2, Capítulo 4 e Capítulo 5 estão formatados de acordo com o periódico *The Botanical Journal of the Linnean Society* e o Capítulo 3 está formatado de acordo com o periódico *Plant Systematics and Evolution*.

O Capítulo I abrange o referencial teórico, o qual consiste em informações sobre o estado da arte do grupo taxonômico em foco, sobre as subfamílias e gêneros estudados e sobre os trabalhos existentes de estruturas reprodutivas na família. Neste capítulo também apresentamos os objetivos do trabalho, que em conjunto com o referencial teórico constituem os alicerces para a compreensão dos capítulos seguintes.

O Capítulo II apresenta a análise comparativa detalhada do ovário e do rudimento seminal de uma ampla amostra da subfamília *Tillandsioideae*, fornecendo dados relevantes para a taxonomia do grupo.

O Capítulo III é composto pelo estudo comparativo do ovário e do rudimento seminal em seis subfamílias pertencentes a *Bromeliaceae*, fornecendo inferências evolutivas sobre aspectos do gineceu na família.

O Capítulo IV abarca um estudo preliminar dos aspectos gerais da morfologia dos estames em Tillandsioideae inferindo sua potencial utilidade diagnóstica e perspectivas futuras de estudos do androceu.

Por fim, o Capítulo V apresenta um panorama geral das informações mais relevantes da tese e, ainda, as perspectivas originadas a partir desse trabalho.

RESUMO

Bromeliaceae constitui um grande e diverso grupo de plantas monocotiledôneas de origem essencialmente Neotropical. Embora a delimitação da família e subfamílias do grupo estejam definida, as relações inter e infragenéricas não estão completamente esclarecidas. Estruturas reprodutivas possuem excelentes caracteres diagnósticos para delimitação de grupos naturais e ainda auxiliam a compreender processos evolutivos em diferentes taxa. Dessa forma, este trabalho visa descrever a anatomia comparada do ovário e do rudimento em exemplares de seis subfamílias de Bromeliaceae, contemplando 20 gêneros e um total 104 espécies; e ainda busca caracterizar a morfologia dos estames de 69 espécies de Tillandsioideae. As análises foram executadas em Microscopia Fotônica e em Microscopia Eletrônica de Varredura. A anatomia do ovário e do rudimento seminal apresentam claros padrões em diferentes subfamílias ou gêneros de Bromeliaceae. Com relação ao ovário, estruturas especializadas são apenas observadas em duas subfamílias de divergência tardia em Bromeliaceae (Bromelioideae e Puyoideae). A condição de poucos rudimentos seminais foi observada nos gêneros cedo divergente de Tillandsioideae e Bromelioideae, sendo esse uma característica plesiomórfica em Bromeliaceae. Referente ao rudimento seminal, embora esse apresente variações com relação a espessura e comprimento dos tegumentos; morfologia e tamanho do apêndice calazal; e morfologia das células epidérmicas nucelares, se observa que tais características se mantêm constantes ou apresentam tendências dentro dos gêneros ou subgêneros analisados. A origem subdérmica do apêndice calazal foi con-

firmada para todas as espécies analisadas; sendo a morfologia acumeada desta estrutura a condição ancestral na família e os apêndices calazais múltiplos de *Catopsis* e o apêndice calazal lateral de *Puya* aparecem como apomorfias. Bromelioideae apresenta redução desta estrutura, demonstrando uma tendência a sua completa perda. O caráter alongado das células epidérmicas nucelares foi observado em todas as subfamílias, exceto em certos gêneros de Bromelioideae, sendo dessa forma considerado uma autapomorfia para esta subfamília. Ainda, a análise da morfologia externa dos estames de Tillandsioideae apresentam certos padrões nos diferentes gêneros analisados. As análises realizadas na presente tese indicam que certas características anatômicas e morfológicas de órgãos florais são estáveis dentro de grupos de espécies, gêneros ou subfamílias de Bromeliaceae e além de fornecer dados sobre tendências evolutivas dos aspectos reprodutivos na família, são potencialmente indicados para análises filogenéticas quando utilizadas em conjunto com dados moleculares.

ABSTRACT

Bromeliaceae constitute a great and diverse group of monocots with neotropical origin. Although subfamilies are now well delimited, generic and infrageneric relationships are not yet fully understood. Reproductive structures provide excellent diagnostic traits and can help the delimitation of natural groups and also assist in the understanding of the evolutionary process in different taxa. That way, this study aims describe the comparative anatomy of ovary and ovule in six subfamilies of Bromeliaceae, 20 genera and 104 species, and characterize stamen morphology of 69 species belong to seven genera of Tillandsioideae. The analysis were performed in light and scanning electron microscopy. Ovary and ovule anatomy presented clear patterns in each subfamily or genus of Bromeliaceae. Related to the ovary specialised structures were observed in two late divergent subfamilies (Bromelioideae and Puyoideae). Few ovules per carpel was observed in early divergent genera of Tillandsioideae and Bromelioideae, A condição de poucos rudimentos seminiais foi observada nos gêneros cedo divergente de Tillandsioideae e Bromelioideae and therefore was considered the plesiomorphic state of the character in Bromeliaceae. Regarding to the ovule, its structure presented variation in thickness and length of teguments; morphology and length of chalazal appendages; and morphology of nucelar epidermal cells. However these characters are constant or present a expected pattern in different genera or subgenera analyzed. The subdermal origin of chalazal appendage was confirmed for all analyzed species, the acuminate morphology was established as the ancestral condition to the family and the multiple chalazal appendages of *Catopsis* and the lateral chalazal appendage, in *Puya* are

apomorphies in Bromeliaceae. Bromelioideae show reduction of chalazal appendages and some species of this subfamily also present complete loss of this structure. The elongated nucelar cells were observed in all subfamilies, except in some genera of Bromelioideae. Therefore the non elongated epidermal cell might be considered a autapomorphy in Bromelioideae. Moreover the analyses of external morphology of stamen of Tillandsioideae show some trends in each genus.

The present study indicates that certain morphologic and anatomic characteristics of floral organs are stable into groups of species, genera or even into a whole subfamily of Bromeliaceae. Then, embryology provided a different set of data about evolutive patterns of reproductive structures to the family, besides they are useful to the taxonomy when used together with molecular data.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	1
Referencial Teórico.....	1
A família Bromeliaceae	2
A subfamília Tillandsioideae Harms	7
Os gêneros de Tillandsioideae estudados	10
Demais subfamílias de Bromeliaceae	15
Estudos morfológicos e anatômicos em estruturas reprodutivas de Bromeliaceae	18
Objetivos.....	22
Referências Bibliográficas	23
CAPÍTULO II	37
Morphoanatomy of the ovary and ovule of Tillandsioideae (Bromeliaceae) and its systematic relevance.	37
Introduction	39
Materials and methods	41
Results	42
Discussion	45
Conclusions.....	55
References.....	57
CAPÍTULO III.....	82
Bromeliaceae: Morfologia e tendências evolutivas do ovário e do rudimento seminal	82
Introdução	84
Material e métodos.....	86
Resultados.....	87
Discussão	92
Conclusão.....	101
Referências bibliográficas	102
CAPÍTULO IV.....	118
Considerações sobre a morfologia dos estames de espécies pertencentes à	118

Tillandsioideae (Bromeliaceae)	118
Introdução	120
Material e métodos.....	122
Resultados	123
Considerações finais sobre a morfologia da antera em Tillandsioideae	127
Referências bibliográficas.....	131
CAPÍTULO V	145
Considerações finais e perspectivas futuras.....	145

CAPÍTULO I

Referencial Teórico

A família Bromeliaceae

Bromeliaceae pertence a um grupo de plantas monocotiledôneas incluídas na ordem Poales (APG III, 2009) e apresenta origem Neotropical. A família é conhecida por sua grande diversidade ecológica, peculiaridades morfológicas e riqueza de espécies (Benzing, 2000; Crayn, Winter & Smith, 2004; Givnish *et al.*, 2011).

Bromeliaceae é representada por ervas tropicais a estresse tolerantes (Benzing, 1980), sendo praticamente todas as espécies perenes. As plantas podem ser terrícolas, epifíticas ou litofíticas (Crayn, *et al.*, 2014) e seu porte também varia consideravelmente.

As folhas, comumente, apresentam-se inseridas em espiral no caule formando uma “roseta”, estas podem ser simples, inteiras ou serradas, raramente possuem pecíolo, mas a presença de bainha é frequente. Normalmente as folhas apresentam coloração verde a verde acinzentado, no entanto, é também frequente a coloração avermelhada e roxa, sendo muitas espécies diagnosticadas pelos desenhos de suas folhas como manchas irregulares, bandas intercaladas, pontos ou estrias (Smith & Downs, 1974). Uma característica fundamental das folhas de Bromeliaceae é a presença de tricomas, definidos como “escamas peltadas”, que apresentam função na absorção de água e nutrientes (Benzing, 1976; Reitz, 1983). O caule geralmente é curto e compacto, no entanto em espécies de *Tillandsias*, ele pode ser alongado e apresentar folhagem densa (Smith & Downs, 1974).

As raízes de Bromeliaceae apresentam características específicas de acordo com o hábito das diferentes espécies. Em plantas exclusivamente epífitas as raízes são reduzidas e o único papel desse órgão é a fixação, sendo inexistente a função de absorção de água e nutrientes. Em casos extremos, como em *Tillandsia werdermannii*, a planta pode se desenvolver completamente

sem raízes. Diferentemente, espécies terrestres apresentam um sistema de absorção de água e nutrientes através das raízes durante todo seu desenvolvimento (Smith & Downs, 1974; Benzing, 1980, Reitz, 1983), sendo inclusive observado raízes do tipo velame em espécies do gênero *Dyckia* e *Encholirium* (Pita & Menezes, 2002).

Suas inflorescências se desenvolvem geralmente no eixo principal e são terminais, podendo ser simples, compostas ou ramificadas. Estas são quase sempre indeterminadas e a sequência de florescimento é geralmente da base para o ápice. As flores nessa família são trímeras e o perianto é claramente diferenciado em sépalas e pétalas. Os frutos de Bromeliaceae podem ser baga ou cápsula e as sementes são nuas, aladas ou plumosas (Smith & Downs, 1974, 1977, 1979; Reitz, 1983).

Bromeliaceae constitui um dos componentes mais marcantes do dossel das florestas neotropicais (Ozanne *et al.*, 2003), possuindo extrema importância ecológica em seu habitat. A organização das folhas em forma de roseta em indivíduos de Bromeliaceae retém, muitas vezes, uma grande quantidade de água, a qual permite o sustento de microambientes em seu interior. Dessa forma, certos indivíduos proporcionam abrigo e nutrientes para uma grande diversidade de insetos e artrópodes, incluindo espécies de salamandras e sapos (Martinelli *et al.*, 2008). As flores de Bromeliaceae também são importante fonte de alimento para uma grande variedade de insetos, beija-flores e morcegos, uma vez que esses animais são seus polinizadores típicos (Reitz, 1983; Benzing, 1980, 2000; Buzato, Sazima & Sazima, 2000). Assim, além da família mostrar-se essencial para a sobrevivência de muitas espécies de animais, ainda proporciona um ambiente propício para o desenvolvimento de espécies com estágio aquático de seu ciclo de vida.

Na mata atlântica, Bromeliaceae é uma das famílias com maior diversidade taxonômica, com a maioria das espécies localizadas em corredores ecológicos dessa formação. Em virtude do

seu potencial ornamental, diversas espécies têm sido amplamente exploradas, e dessa forma, a Lista Vermelha do Brasil de espécies ameaçadas inclui 119 espécies da família em alguma categoria de ameaça (65 espécies classificadas como “vulneráveis”, 47 espécies “ameaçadas” e sete espécies no grau de “criticamente ameaçadas”), enquanto outras 21 espécies são classificadas como próximas de ameaça. Essa situação além de criar a fragmentação e perda de habitats naturais, leva a família a uma perda de diversidade genética contribuindo assim para a extinção de diversas espécies (Martinelli *et al.*, 2008).

Com relação a distribuição, Bromeliaceae ocorre nos trópicos, subtropicais das Américas possuindo uma única espécie no oeste africano (Givnish *et al.*, 2011), sendo tal ocorrência provavelmente resultado de dispersão a longa distância (Givnish *et al.*, 2004). Espécies dessa família podem ser encontradas em áreas abertas e ensolaradas, locais extremamente áridos como desertos, florestas úmidas e ainda em zonas Andinas extremamente frias (Smith & Downs, 1974; Benzing, 2000; Givnish *et al.*, 2007, 2011).

Estudos recentes indicam que Bromeliaceae surgiram no escudo das Guianas a aproximadamente 100 milhões de anos e iniciaram sua diversificação e dispersão a cerca de 19 e 15,4 milhões de anos atrás, respectivamente. A partir de então diferentes grupos se direcionaram para América Central, Sudeste da América do Norte e América do Sul, sendo que a grande irradiação de Bromeliaceae se deu, provavelmente, após o soerguimento do norte dos Andes e da mudança na direção do curso do rio Amazonas, possibilitando a colonização de diversos tipos de habitats (Givnish *et al.*, 2007, 2011). A maior parte das espécies atuais da família pertence a duas grandes irradiações: o núcleo tillandsiíide, originado nos Andes e o núcleo bromeliíide, do escudo brasileiro, originado na Serra do Mar e regiões adjacentes (Givnish *et al.*, 2011). Essa grande dispersão apenas foi possível devido a combinação de certos atributos específicos

exibidos na família que permitiram que esse grupo de espécies se tornassem tão ecologicamente versátil e tolerante a estresse (Benzing, 2000).

Partindo do pressuposto que os ancestrais de Bromeliaceae eram espécies terrestres, mesófitas, com fotossíntese do tipo C3 e provavelmente adaptadas a locais úmidos e pobres em nutrientes (Crayn *et al.*, 2004), a irradiação da família para diferentes habitats se deu acompanhada de modificações morfológicas e fisiológicas ligadas a mecanismos pontuais de inovações. A organização do corpo da planta formando um tanque para o acúmulo de água e nutrientes, a conservação de água através da mudança do tipo de fotossíntese, conhecida com metabolismo ácido das crassuláceas (Crayn *et al.*, 2004) e a transição da forma terrestre para epifítica, a qual parece estar intimamente ligada ao surgimento dos tricomas epidérmicos absorventes (Mez, 1934-35; Benzing, 2000) constituíram os passos essenciais para a conquista de diferentes tipos de ambientes.

Quanto às relações filogenéticas e taxonômicas entre Bromeliaceae e famílias relacionadas, estas nem sempre foram claras, diversos estudos trataram de compreender o posicionamento das famílias pertencentes a ordem Poales, apontando diferentes resultados (e.x. Michelangeli, Davis & Stevenson, 2003; Davis *et al.*, 2004; Givnish *et al.*, 2005; Christin *et al.*, 2008; Graham *et al.*, 2006; Chase *et al.*, 2006). Atualmente as relações entre as famílias da ordem estão cada vez mais claras e estudos atuais apontam que Bromeliaceae é grupo irmão dos demais taxóons de Poales, seguidos por Typhaceae e Rapateaceae (Givnish *et al.*, 2010; Barrett *et al.*, 2015). Esse grado é cedo divergente na família sendo, posteriormente, seguido pelos clados: Cyperiids, Xyrids, Restiids e Graminids (Linder & Rudall, 2005; Givnish *et al.*, 2000). A ocorrência de nectários septais apenas em Bromeliaceae e algumas espécies derivadas de Rapateaeceae também corroboram com o posicionamento basal da família (Givnish *et al.*, 2000).

No que tange a delimitação de Bromeliaceae, esta se encontra bem definida e diversos estudos apontam que a família é monofilética (Nandi, Chase & Endress, 1998; Hilu *et al.*, 2003; Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2007), sendo morfológicamente distinguida pela presença de tricomas epidérmicos absorventes, estigma conduplicado-espiral (Brown & Gilmartin, 1984, 1989) e número básico de cromossomos igual a 25, exceto em *Cryptanthus* e poucas espécies de Tillandsioideae e Bromelioideae (Ramírez & Brown, 2001; Ceita, 2008).

Bromeliaceae era historicamente subdividida em três subfamílias baseando-se principalmente no habitat, morfologia do fruto e da semente e posição do ovário. Dessa forma, Pitcairnioideae era definida por possuir hábito terrestre, com sistema radicular bem desenvolvido, folhas geralmente aculeadas e sementes aladas e raramente nuas; Tillandsioideae por apresentar espécies geralmente epífitas, folhas de margens inteiras e sementes com apêndices plumosos e Bromelioideae caracterizadas por possui ovário geralmente ínfero, frutos do tipo baga, sementes nuas e folhas espinhoso-serruladas (Reitz, 1983; Smith & Downs 1974, 1977, 1979).

Ao longo dos anos diversos estudos começaram a questionar o monofiletismo das subfamílias, gerando uma série de trabalhos que buscavam compreender melhor as relações em Bromeliaceae. O uso de técnicas moleculares começou a ser amplamente utilizado, no entanto, num primeiro momento, pouco progresso foi alcançado. Tal fato se deve, em parte, pela a posição taxonomicamente isolada de Bromeliaceae, sem grupo externo definido, sendo difícil polarizar estados de caráter (Gilmartin e Brown, 1987; Terry, Brown & Olmstead, 1997a; Givnish *et al.*, 2000; Pires & Sytsma, 2002); parte devido às baixas taxas evolutivas do DNA cloroplastidial apresentadas na família (Gaut *et al.*, 1997; Givnish *et al.*, 2004, 2005) e também pela limitada quantidade de táxons amostrados nesses estudos.

Com o surgimento de novas técnicas moleculares, uma análise mais ampla de táxons pode ser feita e diferentes regiões do genoma foram sendo incluídas nos estudos, proporcionando uma maior compreensão das relações entre as famílias de monocotiledôneas como um todo (Givnish *et al.*, 2005; Chase *et al.*, 2006; Graham *et al.*, 2006) e também entre Bromeliaceae (e.g., Terry *et al.*, 1997a; Horres *et al.*, 2000; Crayn *et al.*, 2004; Givnish *et al.*, 2004; Sass & Specht, 2010). Em 2007, Givnish *et al.*, assumem Pitcairnioideae como um grupo parafilético, e dividem Bromeliaceae em oito subfamílias: Tillandsioideae, Bromelioideae, Pitcairnioideae, Brocchinioideae, Lindmanioideae, Hechtioideae, Puyoideae, Navioideae. Em 2011, Givnish *et al.*, apresentam um estudo filogenético apresentando cladogramas com maior suporte, estabelecendo as relações entre as subfamílias de Bromeliaceae da seguinte maneira: Brocchinioideae, (Lindmanioideae, (Tillandsioideae, (Hechtioideae, (Navioideae, (Pitcairnioideae, (Puyoideae, Bromelioideae)))))). Dessa forma, atualmente a família Bromeliaceae é composta por 3408 espécies distribuídas em 58 e oito subfamílias (Luther, 2014).

A subfamília Tillandsioideae Harms

Tillandsioideae é representada por plantas herbáceas, muitas vezes epífitas e podem ser caulescentes ou acaulescentes. As raízes servem, geralmente, apenas para fixação e na maioria das vezes estão ausentes. As folhas se distribuem formando rosetas ou fascículos ou se distribuem ao longo do caule. As folhas são inteiras e geralmente apresentam escamas radialmente e simetricamente dispostas. O ovário é súpero ou praticamente súpero, exceto em *Glomeropitcairnia* que apresenta ovário semi-ínfero, os frutos compreendem cápsula septicida e as sementes possuem apêndices plumosos na base ou no ápice, ou em ambos (Smith & Downs, 1977).

Tillandsioideae é a subfamília que apresenta a maior área de distribuição de Bromeliaceae ocorrendo espécies deste grupo desde a Argentina (Smith & Downs, 1977) até sudoeste dos Estados Unidos (Garth, 1964). O centro de maior diversidade é o norte dos Andes e Antilhas (Smith & Downs, 1977), ocorrendo ainda, diversos centros secundários de diversidade na América central (*Werauhia*) e sudeste Brasileiro (*Alcantarea*, *Tillandsia* subg. *Anoplophytum* e parte de *Vriesea*) (Benzing, 2000).

De acordo com Barfuss *et al.* (2005) linhagens cedo divergentes de Tillandsioideae surgiram no norte da América do Sul, migrando posteriormente para o leste do Brasil (*Vriesea* s.l.) e Caribe (*Catopsis* e *Glomeropitcairnia*). Posteriormente, com o soerguimento dos Andes, *Guzmania*, *Mezobromelia*, *Racinaea*, *Tillandsia* e *Viridantha* exibem uma radiação adaptativa explosiva ao longo da cordilheira, migrando em direção ao México e Sul do Chile.

Atualmente a delimitação de Tillandsioideae possui forte suporte tanto morfológico quanto molecular (Terry & Brown, 1996; Horres *et al.*, 2000; Crayn *et al.*, 2004; Givnish *et al.*, 2007, 2011; Escobedo-Sarti *et al.*, 2013; Gilmartin & Brown, 1987; Barfuss *et al.*, 2005). De acordo com a classificação atual, é composta por quatro tribos - Catopsidae, Glomeropitcairnieae, Vrieseae e Tillandsieae - as quais incluem cerca de 1362 espécies, distribuídas em dez gêneros: *Alcantarea* (E. Morren ex Mez) Harms (28 spp.), *Catopsis* Griseb. (18 spp.), *Glomeropitcairnia* (Mez) Mez (2 spp.), *Guzmania* R. & Pav. (210 spp.), *Mezobromelia* L. B. Sm. (9 spp.), *Racinaea* M. A. Spencer & L. B. Smith (65 spp.), *Tillandsia* L. (620 spp.), *Viridantha* Espejo-Serna (6 spp.), *Vriesea* Lindl. (266 spp.) e *Werauhia* J. R. Grant (87 spp.) (Luther, 2014)

Catopsis e *Glomeropitcairnia* são gêneros cedo divergente em Tillandsioideae (Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2007, 2011) e embora a inclusão de ambos na subfamília tenha sido controversa, atualmente é suportado por análises cladísticas de caracteres morfológicos

(Gilmartin *et al.*, 1989) e moleculares (Terry, Brown & Olmstead, 1997a, b; Horres *et al.*, 2000), sendo estes os gêneros mais bem delimitados de Tillandsioideae.

Por outro lado, a circunscrição dos demais gêneros ainda encontra-se em constante mudança. A dificuldade na delimitação dos gêneros é em parte causada pelo uso de caracteres morfológicos de utilidade diagnóstica questionável (ex. tipo de inflorescência, variações da conação do tubo da corola, posicionamento de estames e estigma e presença ou ausência de apêndices petalíneos) e parte devido ao fato de importantes obras taxonômicas do grupo (Baker, 1889; Mez, 1934-35; Smith & Downs, 1977) terem sido baseadas principalmente em material de herbário, no qual as estruturas florais encontram-se, muitas vezes, mal preservadas ou ausentes, impondo dificuldade na seleção de caracteres diagnósticos para os taxóns e gerando imprecisão na delimitação dos gêneros (Benzing, 1980; Brown & Terry, 1992).

Conseqüentemente, mudanças ao nível genérico são frequentes. Espécies de *Vriesea* foram transferidas para *Alcantarea*, *Guzmania*, *Mezobromelia*, *Werauhia* e *Tillandsia* (Grant, 1995a; Utley, 1978; Utley & Luther, 1991; Grant, 1993a; Grant, 1995a, b; Grant, 1993b, 1994a, 1995b). Espécies de *Guzmania* foram transferidas para *Mezobromelia* (Utley & Luther, 1991) e espécies de *Tillandsia* foram transferidas para *Guzmania*, *Mezobromelia* e *Racinaea* (Rauh, 1991; Weber e Smith, 1983; Grant, 1993a, 1994b; Spencer e Smith, 1993).

Os gêneros mais heterogêneos são *Guzmania*, *Mezobromelia*, *Vriesea*, e *Tillandsia* sendo todos para - ou polifiléticos (Brown & Gilmartin, 1984, 1989; Böhme, 1988; Gross, 1988; Halbritter, 1992; Terry & Brown, 1996; Terry *et al.*, 1997b; Horres *et al.*, 2000; Crayn *et al.*, 2004; Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2011; Gomes da Silva *et al.*, 2012).

Ainda, a divisão de *Tillandsia* em seis subgêneros (*Allardtia*, *Anoplophytum*, *Diaphoranthema*, *Phytarrhiza*, *Pseudalcantarea*, e *Tillandsia*) e a segregação de *Racinaea*

(anteriormente tratada como *T.* subgen. *Pseudo-Catopsis*) e *Viridantha* (anteriormente incluída em *T.* subgen. *Allardtia*) delimitam apenas parcialmente grupos naturais (Barfuss *et al.*, 2005).

Por fim, *Alcantarea* e *Werauhia* são definidos como monofiléticos (Barfuss *et al.*, 2005; Versieux *et al.*, 2012)

Os gêneros de Tillandsioideae estudados

Catopsis Griseb

O gênero *Catopsis* consiste em ervas com folhas densamente dispostas em uma roseta infundibuliforme a quase tubular. Suas folhas apresentam bainha ampla, o escapo é bem desenvolvido, e a inflorescência geralmente é bipinada e subereta. As flores são pequenas, com corola actinomorfa, sépalas livres e fortemente assimétricas, pétalas livres, estames inclusos e anteras ovaladas ou elípticas. O fruto é uma cápsula septicida e as sementes apresentam apêndices apicais (Smith & Downs, 1977). O gênero *Catopsis* se distribui desde o sudeste dos Estados Unidos até o sul do Brasil (Giulietti, 2007) e atualmente é composto por 18 espécies (Luther, 2014).

Vriesea Lind.

O gênero *Vriesea* consiste em ervas acaulescentes e geralmente epifíticas. Suas folhas se organizam formando uma roseta infundibuliforme a utricular, com capacidade de armazenar água. As folhas são polísticas, com bainha conspícua. A lâmina foliar possui margem lisa e é levemente lepidota. Suas inflorescências são espigadas ou panículas dispostas acima das folhas e as flores são dísticas, polísticas ou até mesmo secundas. As brácteas florais são normalmente conspícuas; as flores são perfeitas e apresentam um pequeno pedicelo. As sépalas são convolutas e livres e as pétalas são livres ou concrecidas formando um tubo, em sua base se dispõem duas escamas. Os estames podem ser inclusos ou exsertos. O ovário é súpero ou quase

súpero, o fruto é uma cápsula e as sementes são fusiformes com apêndices basais (Smith & Downs, 1977). O gênero *Vriesea* apresenta distribuição ampla na América do Sul com um dos maiores centros de riqueza específica a Mata Atlântica Brasileira, ocorrendo também no Cerrado, Amazônia, Caatinga e Pampa (Wanderley & Martin, 2007).

Atualmente 266 espécies compõem o gênero, cuja divisão em duas seções ainda é utilizada, embora análises moleculares recentes (Gomes-da-Silva *et al.*, 2012; Versieux *et al.*, 2012) tenham apontado a artificialidade de tais grupos. De acordo com Smith & Downs (1977) *Vriesea* sec. *Vriesea* apresenta normalmente brácteas coloridas (vermelhas, laranjas ou amarelas) e estames exsertos, enquanto que *Vriesea* sec. *Xiphion* apresenta brácteas normalmente verdes ou marrons e estames inclusos.

Alcantarea (E.Morren ex Mez)

Espécies pertencentes ao gênero *Alcantarea* possuem folhas que se dispõem de modo a formar uma roseta infundibuliforme. A lâmina foliar é linear ou linear-lanceolada, com margens lisas. O escapo é ereto, robusto com brácteas escapais imbricadas. A inflorescência é uma panícula, suas flores são vistosas, as pétalas são livres e reflexas (nunca eretas) de cores alvo-amarelas. Os filetes são expostos, o fruto é uma cápsula e as sementes possuem apêndices basais e apicais (Smith & Downs, 1977; Grant, 1995a). O status do gênero *Alcantarea* apresentou diversas modificações desde sua descrição, sendo primeiramente tratada como um subgênero de *Vriesea* (Mez, 1894; Smith & Down, 1997) e posteriormente como um gênero independente (Grant, 1995a). O status de *Alcantarea* como gênero é suportado pela distribuição de suas espécies, restrita ao sudeste e nordeste do Brasil e pelas características de suas flores e sementes (Grant, 1995a; Coffani-Nunes *et al.*, 2010; Versieux *et al.*, 2012) e de acordo com Luther (2014) o gênero é composto por 28 espécies. No entanto, é importante ressaltar que embora *Alcantarea*

seja amplamente aceito, esse não é considerado um gênero válido pelo Royal Botanical Garden, Kew (World Checklist of Selected Plant Families), sendo sinonimizado como *Vriesea*.

***Werauhia* J.R.Grant**

Espécies pertencentes ao gênero *Werauhia* são caracterizadas por suas inflorescências compostas e secundariamente reduzidas ou abortivas. A floração dessas plantas é noturna, suas flores geralmente não apresentam cores vibrantes sendo todos os verticilos carnosos. As flores apresentam corola zigomórficas e os apêndices petalíneos são dactilóides (Utley, 1983; Grant, 1995). Espécies pertencentes a esse gênero foram pela primeira vez descritas como gênero *Thecophyllum* (*sensu* Mez, 1934-35). Posteriormente Smith & Pittendrigh (1953) transferem tais espécies para *Vriesea* sec. *Xiphion* e em 1995, Grant, ressaltando características únicas para o grupo, também observadas por Utley (1983), segrega *Werauhia* de *Vriesea*, formando um gênero independente. O gênero apresenta distribuição do Sul do México, América Central, Caribe, Peru e Norte do Brasil e atualmente é composto por 87 espécies (Luther, 2014). No entanto, é importante ressaltar que embora *Werauhia* seja amplamente aceito, não é considerado um gênero válido pelo Royal Botanical Garden, Kew (World Checklist of Selected Plant Families), sendo sinonimizado como *Vriesea*.

***Tillandsia* L.**

Tillandsia consiste em ervas que desenvolvem hábitos muito variados. Suas folhas formam uma roseta infundibuliforme a utricular, sendo caulescente ou não. As folhas podem ser polísticas, dísticas ou distribuídas ao longo do caule, com bainha geralmente reduzida, e lâmina foliar estreita e triangular ou linear, lepidota e com margens lisas. Sua inflorescência normalmente é composta por uma panícula, um racemo ou uma espiga dística ou polística. As brácteas florais podem ser conspícuas ou pequenas; as flores são perfeitas; as sépalas são

convolutas e normalmente simétricas, podendo ser livres ou fusionadas. As pétalas são livres e os estames apresentam diversos tamanhos. O ovário é súpero, o fruto tipo cápsula septicida e a semente apresenta apêndices plumosos basais (Smith & Downs, 1977; Till, 2000).

Atualmente *Tillandsia* apresenta 620 espécies que estão divididas em seis subgêneros os quais apresentam diferentes áreas de distribuição.

O subg. *Allardtia* possui cerca de 200 espécies os quais se distribuem essencialmente nos Andes e América Central, Antilhas e sudeste da Venezuela (Till, 2000).

O subg. *Anoplophytum* possui cerca de 60 espécies com distribuição no leste e sul do Brasil se estendendo para o norte da América do Sul, Antilhas e Bolívia, Argentina e Uruguai (Till, 2000). De acordo Smith & Downs (1997) *Anoplophytum* compreende dois diferentes grupos morfológicos: O grupo Andino, o qual consiste em espécies xerofíticas, e o grupo Brasileiro, o qual contém diversas espécies mesofíticas.

O subg. *Phytarrhiza* possui cerca de 37 espécies sendo cerca de 19 delas mesofíticas e 18 xerofíticas. O primeiro grupo apresenta distribuição na região central dos Andes, norte da América do Sul e ainda algumas espécies alcançando a Guatemala e Belize. O segundo grupo se distribui na região sul dos Andes e nordeste e sul brasileiro (Till, 2000).

O subg. *Diaphoranthema* possui cerca de 30 espécies os quais se distribuem essencialmente no sul dos Andes se estendendo para o nordeste brasileiro e Uruguai (Till, 2000).

O subg. *Tillandsia* possui cerca de 200 espécies os quais se distribuem na América Central e norte da América do Sul se estendendo para o sul dos Estados Unidos da América e Antilhas. Poucas espécies alcançam a Bolívia e a costa do Brasil (Till, 2000).

O subg. *Pseudalcantarea* possui 5 espécies os quais se distribuem do Golfo do México para Nicarágua e ilha Hispaniola.

***Racinaea* M.A.Spencer & L.B.Sm**

O gênero consiste em ervas com filotaxia espiralada, flores dísticas e pequenas, pétalas livres, assimétricas e alargadas em direção ao ápice. Os estames e o pistilo são inclusos na corola, sendo o estigma curto e robusto. Espécies pertencentes a esse gênero foram primeiramente descritas como *Tillandsia* subg. *Pseudo-catopsis* André e em 1993, Spencer & Smith reavaliam tal grupo, elevando *Racinea* como um gênero. Espécies de *Racinaea* ocorrem principalmente nos Andes se estendendo para América Central e Sudeste da Venezuela, sendo que a maioria de seus integrantes habitam florestas tropicais e florestas nebulosas e de acordo com Luther (2014) o gênero é composto por 65 espécies. Ainda, é importante ressaltar que *Racinaea* não é considerado um gênero válido pelo Royal Botanical Garden, Kew (World Checklist of Selected Plant Families), sendo sinonimizado como *Tillandsia*.

***Guzmania* Ruiz & Pav.**

O gênero consiste em ervas acaulescentes, raramente caulescentes. Suas folhas são polísticas e com margens inteiras, o escapo é geralmente robusto e as inflorescências são espigas simples ou bipinadas com flores de arranjo polístico. As flores são perfeitas, suas sépalas são livres ou fusionadas e as pétalas são fusionadas formando um tubo. Os estames normalmente estão fusionados com as pétalas, o ovário é súpero, o fruto do tipo cápsula septicida e as sementes apresentam apêndices basais (Smith & Downs, 1977).

O gênero apresenta distribuição na América Central, norte da América do Sul, Caribe, sudeste dos Estados Unidos, Andes e Sul do Chile (Smith & Downs, 1977; Givnish *et al.*, 2011) e de acordo com Luther (2014) é composto por 210 espécies.

Demais subfamílias de Bromeliaceae

Brocchinioideae

O gênero *Brocchinia* Schult.f., anteriormente pertencente a Pitcairnioideae, foi elevado à subfamília Brocchinioideae por Givnish *et al.* (2007). A subfamília é monogenérica e é representada por 20 espécies (Luther, 2014).

Espécies de Brocchinioideae apresentam fruto do tipo cápsula, suas sementes possuem apêndice bicaudados, suas pétalas são pequenas, regulares e livres. As sépalas apresentam organização coclear. O ovário é parcialmente ou completamente ínfero, a inflorescência pode ser racemosa, paniculada ou capitada, e a lâmina foliar possui margem lisa. A presença de clorênquima estrelado é frequentemente observada (Givnish *et al.*, 1997).

A distribuição de Brocchinioideae está restrita ao Escudo das Guianas, ocorrendo principalmente no sul da Venezuela, no entanto algumas populações se distribuem em regiões adjacentes do Brasil, Colômbia e Guiana (Givnish *et al.*, 1997).

Lindmanioideae

A subfamília Lindmanioideae foi criada por Givnish *et al.* (2007) e atualmente é composta por dois gêneros e 45 espécies: *Connelia* (6), e *Lindmania* (39) (Luther, 2014).

Espécies de Lindmanioideae apresentam fruto do tipo cápsula e suas sementes possuem apêndice bicaudados. Com relação aos estames, estes possuem as anteras subbasifixas, equitantes, retas e robustas, e seus filetes livres. As sépalas são convolutas, as pétalas não lepidotas e o estigma é ereto. Nessa subfamília as flores são pediceladas e lâmina foliar possui margem serrulada ou espinhosa e mesófilo nunca apresentam clorênquima estrelado (Givnish *et al.*, 1997).

A distribuição de Lindmanioideae está restrita ao Escudo das Guianas (Givnish *et al.*, 1997).

Hechtioideae

A subfamília Hechtioideae foi criada por Givnish *et al.* (2007), sendo atualmente representada pelo gênero *Hechtia* o qual consiste em 20 espécies (Luther, 2014).

Espécies de Hechtioideae apresentam fruto do tipo cápsula, as sementes podem ser aladas a quase completamente nuas. Suas flores são dióicas, as folhas são suculentas, apresentando frequentemente margem espinhosa, sendo raramente inteiras. O mesofilo nunca apresentam clorênquima estrelado (Givnish *et al.*, 1997).

Hechtioideae esta distribuída essencialmente na América Central, predominantemente México (Benzing, 2000).

Navioideae

A subfamília Navioideae foi criada por Givnish *et al.* (2007), sendo atualmente composta por 107 espécies, distribuídas em cinco gêneros: *Brewcaria* (6), *Cottendorfia* (1), *Navia* (93), *Sequencia* (1) e *Steyerbromelia* (6) (Luther, 2014).

Espécies de Navioideae apresentam fruto do tipo cápsula, as sementes são aladas ou nuas, as pétalas são pequenas e as sépalas apresentam organização coclear. Nas folhas nunca se observa clorênquima estrelado nem esclerênquima hipodérmico, mas se observa a presença de tricomas irregularmente dispostos e levemente sobrepostos (Givnish *et al.*, 2007).

A distribuição de Navioideae é basicamente restrita ao Escudo das Guianas, no entanto *Cottendorfia* ocorre no nordeste brasileiro (Benzing, 2000).

Pitcairnioideae

Atualmente Pitcairnioideae é composta por 6 gêneros e 640 espécies: *Pepinia* (57), *Deuterocohnia* (19), *Dyckia* (161), *Encholirium* (28), *Fosterella* (31) e *Pitcairnia* (344) (Luther, 2014).

Espécies de Pitcairnioideae apresentam fruto do tipo cápsula, sementes aladas e as pétalas permanecem livres depois da antese (ou levemente enrolada). Suas pétalas são grandes e conspícuas ou, se pequenas, as sépalas são imbricadas e as antera basifixas e lineares (Givnish *et al.*, 2007).

A distribuição de Pitcairnioideae é ampla, ocorrendo espécies na América Central, nos Andes, diversas regiões do Brasil e norte da Argentina e do Paraguai (Smith & Downs, 1974; Benzing, 2000; Givnish, 2007).

Puyoideae

O gênero *Puya* Molina, anteriormente pertencente a Pitcairnioideae, foi elevado a subfamília Puyoideae por Givnish *et al.* (2007). A subfamília é monogenérica e é representada por 219 espécies (Luther, 2014).

Espécies de Puyoideae apresentam fruto do tipo cápsula, as sementes são circunferencialmente aladas, as pétalas fortemente espiraladas depois da antese e as sépalas são convolutas (Givnish *et al.*, 2007). O gênero *Puya* se estende das montanhas da América Central até regiões de média a altas altitudes dos Andes e centro do Chile (Smith & Downs, 1974; Jabaily & Sytsma, 2010).

Bromelioideae

Espécies de Bromelioideae são frequentemente epífitas, usualmente acaulescentes e suas raízes geralmente tem papel apenas na fixação do indivíduo. As folhas normalmente formam uma roseta infundibiliforme, geralmente com margens serruladas a espinhosas, a lâmina foliar é

lepidota apresentando escamas irregularmente dispostas ou raramente tricomas multisseculares e cilíndricos. O ovário é completamente ínfero, os rudimentos seminiais apresentam caudas longas à obtusas e o fruto consiste em uma baga e as sementes são nuas (Smith & Downs, 1979).

Atualmente Bromelioideae é composta composta por 32 gêneros e 950 espécies (Luther, 2014) e a maioria das espécies se distribui no sudeste brasileiro (Benzing, 2000; Givnish, 2011).

Estudos morfológicos e anatômicos em estruturas reprodutivas de Bromeliaceae

Estudos anatômicos realizados em Bromeliaceae se concentram em análises de estruturas vegetativas (ex. Flores, 1975; Souza & Neves, 1996; Souza, Estelita & Wanderley, 2005; Arruda & Costa, 2003; Gomes-da-Silva *et al.*, 2012; Santos-Silva *et al.*, 2013). As folhas são muito utilizadas como objeto de estudo para análises taxonômicas uma vez que tais órgãos apresentam um acesso mais facilitado, comparado às estruturas reprodutivas, possibilitando a amostragem de um maior número de taxa.

Com relação às estruturas reprodutivas pode-se apontar certos trabalhos sobre sua morfologia e ou anatomia. Novikoff & Odintsova (2008) realizam um estudo comparativo do gineceu na família. Sajo, Rudall & Prychid (2004b) fazem inferências evolutivas sobre o posicionamento do ovário em Bromeliaceae detalhando aspectos dos nectarios septais. Kulkarni & Pai (1982) descrevem a anatomia floral de *Puya spathaceae* Mez., detalhando seu nectário e ainda diversos trabalhos enfocaram a morfologia do estigma em espécies de Bromeliaceae (Brown & Gilmartin, 1984, 1988, 1989; Varadarajan & Brown, 1988; Heslop-Harrison & Shivanna, 1977; Tardivo & Rodrigues, 1998; Vervaeke *et al.* 2003). Ainda, Brown & Terry (1992) descrevem ontogenia dos apêndices petalinos e Evans & Brown (1989) caracterizam os filetes plicados em *Tillandsia* subgen. *Anoplophytum*, sendo ambos caracteres amplamente

utilizado na delimitação taxonômica em gêneros de Bromeliaceae. Estudos anatômicos do fruto foram feitos por Morra, Dottori & Cosa (2002), Fagundes & Mariath (2010) e por Silva (2011) e trabalhos anatômicos com a sementes foram desenvolvidos por Szidat (1922); Rao & Wee (1979); Gross (1988); Varadarajan & Gilmartin (1988); Morra *et al.* (2002); Palací, Brown & Tuthill (2004); Scatena, Segecin & Coan (2006); Strehl & Beheregaray (2006); Pereira *et al.* (2008); Silva & Scatena (2011) e Magalhães & Mariath (2012).

No que diz respeito às análises embriológicas do gineceu e androceu na família a maioria se baseia em estudos detalhados e ontogenéticos de apenas uma espécie. Billings (1904) descreve a megagametogênese e desenvolvimento da semente em *Tillandsia usneoides*; Birge (1911) apresenta a megasporogênese de *T. recurvata*; Lakshmanan (1967) salienta aspectos da esporogênese, da gametogênese e do endosperma de *Lindmania penduliflora*; Wee & Rao (1974) e Rao & Wee (1979) analisam algumas características do megagametófito e da semente de *Ananas comosus*; Conceição, De Toni & Costa (2007) apontam particularidades do nucelo em *Dyckia pseudococcinea*; Sartori (2008) desenvolve um estudo ontogenético do androceu e do gineceu em *Vriesea carinata*; Mendes, Costa & De Toni (2010, 2012) descrevem o desenvolvimento do embrião e do androceu em *Dyckia pseudococcinea*; Papini *et al.* (2011) e Spat (2012) estudam aspectos embriológicos em *Tillandsia aeranthos*; e Fagundes & Mariath (2014) detalham características do rudimento seminal em *Billbergia nutans*. Podemos ainda salientar poucos estudos embriológicos que utilizaram um número maior de espécies realizando uma abordagem taxonômica (Sajo, Prychid & Rudall, 2004a; Sajo *et al.*, 2005; Nogueira *et al.*, 2015).

Por fim, visando a morfologia polínica, um número considerável de trabalhos vem sendo feitos com o objetivo de auxiliar na taxonomia do grupo (Ehler & Schill, 1973; Erdtman &

Praglowksi, 1974; Wanderley & Melhem, 1991; Halbritter, 1992; Sousa, Wanderley & Cruz-Barros, 1997; Forzza & Wanderley, 1998; Tardivo & Rodrigues, 1998; Vervaeke *et al.*, 2003; Souza, Mendonça & Gonçalves-Esteves, 2004; Moreira, Cruz-Barros & Wanderley, 2005; Herller *et al.*, 2015).

Os caracteres embriológicos têm sido considerados de grande utilidade em estudos filogenéticos (Tobe, 1989; Igersheim & Endress, 1998; Endress & Igersheim 2000; Igersheim, Buzgo & Endress, 2001; Endress, 2005, 2011a; Gross, 1988; Sajo *et al.*, 2004a; Magalhães & Mariath, 2012), por apresentar baixa plasticidade fenotípica em comparação aos vegetativos, e serem considerados mais confiáveis para a delimitação de grupos naturais. Dessa forma, específicas variações observadas em órgãos reprodutivos de grandes clados são de grande valor para a macrosistemática (Tobe, 1989; Endress, 2011b) e quando somados a outras fontes de dados, podem auxiliar a traçar a história evolutiva de famílias botânicas (Plachno & Swiatek, 2009).

Estudos enfocando a embriologia comparada do rudimento seminal e de anteras foram pouco investigados em Bromeliaceae, devido a rigorosa natureza descritiva desses trabalhos e a dificuldade de obtenção de uma amostragem significativa de material reprodutivo. No entanto, trabalhos recentes, focados no rudimento seminal (Fagundes & Mariath, 2014; Nogueira *et al.*, 2015) indicam a existência de padrões claramente definidos dessa estrutura para certos grupos de Bromeliaceae.

Diante do exposto, o presente projeto tem como objetivo fornecer dados morfológicos e anatômicos a respeito do rudimento seminal em Bromeliaceae, com um maior detalhamento na subfamília Tillandsioideae com intuito de fornecer caracteres úteis para o esclarecimento das relações genéricas nesse grupo e ainda proporcionar dados adicionais para uma análise das

tendências evolutivas do rudimento seminal e ovário em Bromeliaceae baseado na atual filogenia. Ainda dados adicionais sobre a morfologia dos estames em Tillandsioideae foram gerados afim de estabelecer padrões para cada gênero analisado. Neste trabalho foram utilizados exemplares de seis subfamílias de Bromeliaceae, 20 gêneros e um total 104 espécies, sendo que duas das subfamílias foram pela primeira vez analisadas em estudos embriológicos (Navioideae e Hechtioideae).

Objetivos

Objetivos Gerais

- Caracterizar anatomicamente o ovário e o rudimento seminal maduro de Bromeliaceae;
- Caracterizar a morfologia dos estames de Tillandsioideae.

Objetivos Específicos

- Analisar e descrever anatomicamente o ovário e o rudimento seminal maduro de uma ampla amostra de espécies pertencentes a Tillandsioideae e fornecer caracteres anatômicos que possam ser utilizados por outros pesquisadores em análises filogenéticas de Tillandsioideae;
- Analisar e descrever anatomicamente o ovário e o rudimento maduro de espécies pertencentes a 6 subfamílias de Bromeliaceae, verificar se existem padrões de variação entre elas e definir tendências evolutivas do ovário e do rudimento em Bromeliaceae;
- Analisar e descrever a morfologia dos estames de uma ampla amostra de espécies pertencentes a Tillandsioideae e definir padrões morfológicos para diferentes gêneros da subfamília.

Referências Bibliográficas

- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 122-127.
- Arruda, RCO, Costa AF. 2003. Foliar anatomy of five *Vriesea* sect. *Xiphion* (Bromeliaceae) species. *Selbyana*, 24:180-189.
- Baker JG. 1889. *Handbook of the Bromeliaceae*. London: George Bell and Sons
- Barfuss MHJ, Samuel R, Till W, Stuessy TF. 2005. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on dna sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany* 92: 337-351.
- Barrett CF, Baker WJ, Comer JR, Conran JG, Lahmeyer SC, Leebens- Mack JH, Li J, Lim GS, Mayfield-Jones DR, Perez L, Medina J, Pires JC, Santos C, Stevenson DW, Zomlefer WB, Davis JJ. 2015. Plastid genomes reveal support for deep phylogenetic relationships and extensive rate variation among palms and other commelinid monocots. *New Phytologist*:
- Benzing DH, Henderson K, Kessel B, Sulak J. 1976. The absorptive capacities of bromeliad trichomes. *American Journal of Botany*, 1009-1014.
- Benzing DH. 1980. *The biology of the bromeliads*. California: Eureka, Mad River Press.
- Benzing DH. 2000. *Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation*. New York: Cambridge University Press.
- Billings FH. 1904. A study of *Tillandsia usneoides*. *Botanical Gazette* 38: 99–121.
- Birge WI. 1911. The anatomy and some biological aspects of the ball moss, *Tillandsia recurvata* L. *Bulletin of the University of Texas* 194 (20): 1–24.

- Błachno BJ, Świątek P. 2009. Functional anatomy of the ovule in *Genlisea* with remarks on ovule evolution in Lentibulariaceae. *Protoplasma* 236: 39–48
- Böhme S. 1988. Bromelien studien. III. Vergleichende Untersuchungen zu Bau, Lage und systematischer Verwertbarkeit der Septalnektarien von Bromelien. *Tropische und subtropische Pflanzenwelt* 62: 125–274
- Brown GK, Terry RG. 1992. Petal appendages in Bromeliaceae. *American Journal of Botany* 79: 1051–1071.
- Brown GK, Gilmartin AJ. 1984. Stigma Structure and Variation in Bromeliaceae: Neglected Taxonomic characters. *Brittonia* 36: 364-374.
- Brown GK, Gilmartin AJ. 1989. Stigma types in Bromeliaceae: A systematic survey. *Systematic Botany* 14: 110-132.
- Buzato S, Sazima M, Sazima I. 2000. Hummingbird-pollinated floras at three Atlantic forest sites. *Biotropica* 32: S824–S841
- Ceita GO, Assis JGA, Guedes MLS, Oliveira ANPC. 2008. Cytogenetics of Brazilian species of Bromeliaceae. *Botanical Journal of Linnean Society* 158: 189-193.
- Chase MW, Fay MF, Devey DS, Maurin O, Rønsted N, Davies TJ, Pillon Y, Petersen G, Seberg O, Tamura MN, Asmussen CB, Hilu K, Borsch T, Davis JI, Stevenson DW, Pires JC, Givnish TJ, Sytsma KJ, Mcpherson MA, Graham SW, Rai HS. 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. *Aliso* 22: 63–75
- Conceição S, De Toni KLG, Costa CG. 2007. Particularidades do nucelo de *Dyckia pseudococcinea* L.B. Smith (Bromeliaceae). *Revista Brasileira Biociências* 5:846–848.

- Crayn MD, Winter K, Smith AC. 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the neotropical family Bromeliaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101: 3703-3708.
- Davis JI, Stevenson DW, Petersen G, Seberg O, Campbell LM, Freudenstein JV, Goldman DH, Hardy CR, Michelangeli FA, Simmons MP, Specht CD, Vergara-Silva F, Gandolfo M. 2004. A phylogeny of the monocots, as inferred from rbcL and atpA sequence variation, and a comparison of methods for calculating jackknife and bootstrap values. *Systematic Botany*. 29: 467–510.
- Ehler N, Schill R. 1973. Die Pollenmorphologie der Bromeliaceae. *Pollen et Spores* 10 (1):13-15.
- Erdtman G, Praglowski K. 1974. A note on pollen morphology. In: Smith LB, Downs RJ eds. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph* 14. New York: Hafner Press, 28-33.
- Escobedo-Sarti J, Ramirez I, Leopardi C, Carnevali G, Magellan S, Duno R, Mondragón D. 2013. A phylogeny of Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) derived from an evaluation of nine supertree methods. *Journal of Systematics and Evolution* 51 (6):744-757.
- Evans TM, Brown GK. 1989. Plicate Staminal Filaments in *Tillandsia* Subgenus *Anoplophytum* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany* 76: 1478-1485.
- Fagundes NF, Mariath JEA. 2010. Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. *Acta botanica brasiliica* 24 (3): 765-779.
- Fagundes NF, Mariath JEA. 2014. Ovule ontogeny in *Billbergia nutans* in the evolutionary context of Bromeliaceae (Poales). *Plant Systematics and Evolution* 300: 1323-1336.

- Flores EM. 1975. Alguns aspectos de anatomia foliar comparada de duas espécies de Bromeliaceae (*Aechmea mexicana* Baker e *Hechtia glomerata* Zucc). *Revista de Biologia Tropical* 23 (1): 29-52.
- Forzza RC, Wanderley MGL. 1998. Considerações sobre a morfologia polínica de *Dyckia*, *Encholirium* e *Pitcairnia*. *Bromelia* 5: 50-53.
- Garth RE. 1964. The Ecology of Spanish Moss (*Tillandsia usneoides*): Its Growth and Distribution. *Ecology* 45: 470-481.
- Gaut BS, Clark LG, Wendel JF, Muse SV. 1997. Comparisons of the Molecular Evolutionary Process at rbcL and rbcL in the Grass Family (Poaceae). *Molecular Biology Evolution* 14 (7): 769-777.
- Gilmartin AJ, Brown GK. 1987. Bromeliales, related Monocots, and resolution of relationships among Bromeliaceae subfamilies. *Systematic Botany* 12 (4): 493-500.
- Gilmartin AJ, Brown GK, Varadarajan GS, Neighbours M. 1989. Status of *Glomeropitcairnia* within Evolutionary History of Bromeliaceae. *Systematic Botany* 14: 339-348
- Givnish TJ, Sytsma KJ, Smith JF, Hahn WJ, Benzing DH, Burkardt EM. 1997. Molecular evolution and adaptive radiation in *Brocchinia* (Bromeliaceae: Pitcairnioideae) Atop Tepuis of Guiana Shield. In: Givnish TJ, Sytsma KJ, eds. *Molecular Evolution and Adaptive Radiation*. New York: Cambridge University Press.
- Givnish TJ, Zjhra ML, Patterson TB, Berry PE, Sytsma KJ. 2000. Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphi-atlantic family Rapateaceae: Evidence from ndhF sequences and morphology. *Evolution* 54: 1915-1937.
- Givnish TJ, Millam KC, Evans TM, Hall JC, Pires JC, Berry PE, Sytsma KJ. 2004. Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South Ameri-

- can-African disjunction in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequence data. *International Journal of Plant Science* 165: 35–54.
- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW, McPherson MA, Prince LM, Patterson TB, Rai HS, Roalson ER, Evans TM, Hahn TJ, Millam KC, Meerow AW, Molvray M, Kores P, O'Brien HE, Kress WJ, Hall J, Sytsma KJ. 2005. Repeated evolution of net venation and fleshy fruits among monocots in shaded habitats confirms a priori predictions: Evidence from an *ndhF* phylogeny. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Science* 272: 1481–1490.
- Givnish TJ, Millam KC, Berry PE, Sytsma KJ. 2007. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso* 23: 3-26.
- Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, de Pamphilis CW, Graham SW, Pires CJ, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BGDuvall MR, Moore MJ, Heaney JM, Soltis DE, Soltis PS, Thiele K, Leebens-Mack JH. 2010. Assembling the Tree of the Monocotyledons: Plastome Sequence Phylogeny and Evolution of Poales. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 97(4):584-616.
- Givnish TJ, Barfuss MHJ, Van Ee B, Riina R, Schulte K, Horres R, Gonsiska PA, Jabaily RS, Crayn DM, Smith AC, Winter K, Brown GK, Evans TM, Holst BK, Luther H, Till W, Zizka G, Berry PE, Sytsma KJ. 2011. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany* 98: 1-24.
- Gomes-da-Silva J, Vargens FAC, Arruda RCO, Costa AF. 2012. A Morphological Cladistic Analysis of the *Vriesea corcovadensis* Group (Bromeliaceae: Tillandsioideae), with anatom-

- ical descriptions: New evidence of the non-monophyly of the genus. *Systematic Botany* 37(3):641–654.
- Graham SW, Zgurski JM, McPherson MA, Cherniawsky DM, Saarela JM, Horne ESC, Smith SY, Wong WA, O'Brien HE, Biron VL, Pires JC, Olmstead JC, Chase MW, Rai HS. 2006. Robust inference of monocot deep phylogeny using an expanded multigene plastid data set. *Aliso* 22(1): 3–20
- Grant JR. 1993a. New combinations in *Mezobromelia* and *Racinaea* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Phytologia* 74 (6): 428-430.
- Grant JR. 1993b. True tillandsias misplaced in *Vriesea* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Phytologia* 75: 170- 175.
- Grant JR. 1994a. The reduction of *Platyaechmea* under *Hoplophytum*, and a new name in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Phytologia* 77 (2): 99-101.
- Grant JR. 1994b. Three new species of *Racinaea* (Tillandsioideae: Bromeliaceae) from Ecuador and Peru. *Phytologia* 76 (4): 284-289.
- Grant JR. 1995a. Bromelienstudien. Addendum to “The resurrection of *Alcantarea* and *Werauhia*, a new genus. *Phytologia*. 78 (2): 119-123.
- Grant JR. 1995b. New combinations and new taxa in the Bromeliaceae. *Phytologia* 79: 254-256
- Gross E. 1988. Bromelienstudien IV. Zur Morphologie der Bromeliaceen-Samen unter Berücksichtigung Systematisch-taxonomischer Aspekte. *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* 64: 415–625.
- Halbritter H. 1992. Morphologie und systematische Bedeutung des Pollens der Bromeliaceae. *Grana* 31: 197–212.

- Heller S, Leme EMC, Schulte K, Benko-Iseppon AM, Zizka G. 2015. Elucidating phylogenetic relationships in the Aechmea alliance: AFLP analysis of *Portea* and the *Gravisia* complex (Bromeliaceae, Bromelioideae). *Systematic Botany* 40 (3): 716-725.
- Heslop-Harrison J, Shivanna KR. 1977. The receptive surface of the angiosperm stigma. *Annals of Botany* 41:1233-1258.
- Hilu KW, Borsch T, Muller K, Soltis DE, Soltis PS, Savo-Lainen V, Chase MW, Powell MP, Alice LA, Evans R, Sau-Quet H, Neinhuis C, Slotta TA, Rohwer JG, Campbell CS, Chatrou LW. 2003. Angiosperm phylogeny based on *matK* sequence information. *American Journal of Botany* 90: 1758–1776.
- Horres R, Zizka G, Kahl G, Weising K. 2000. Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: Evidence from trnL (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. *Plant Biology* 2: 306–315.
- Jabaily RS, Sytsma KJ. 2010. Phylogenetics of *Puya* (Bromeliaceae): Placement, Major Lineages, and Evolution of Chilean Species. *American Journal of Botany* 97(2): 337–356.
- Kulkarni RA, Pai RM. 1982. The floral anatomy of *Puya spathacea* Mez. (Bromeliaceae) with special reference to nectaries. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences* 91 (6): 473-478
- Lakshmanan KK. 1967. Embryological studies in the Bromeliaceae. I. *Lindmania penduliflora* (C. H. Wright) Stapf. *The Proceedings of the Indiana Academy of Science* 65:49–55
- Linder HP, Rudall PJ. 2005. Evolutionary history of Poales. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematic* S36: 107–124.
- Luther HE. 2014. *An alphabetical list of Bromeliad binomials*. Florida: Marie Selby Botanical Gardens and Bromeliad Society International.

- Magalhães RI, Mariath JEA. 2012. Seed morphoanatomy and its systematic relevance to Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution* 298:1881–1895
- Martinelli G, Vieira CM, Gonzalez M, Leitman P, Piratininga A, Costa AF, Forzza RC. 2008. Bromeliaceae da Mata Atlântica brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. *Rodriguésia* 59: 209-258
- Mendes SP, Costa CG, De Toni KLG. 2010. Embryo development of *Dyckia pseudococcinea* (Pitcairnioideae-Bromeliaceae), an endangered Brazilian species. *Australian Journal of Botany* 58: 485-492.
- Mendes SP, Costa CG, De Toni KLG. 2012. Androecium development in the bromeliad *Dyckia pseudococcinea* L.B.Sm. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae), an endangered species endemic to Brazil: implications for conservation. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 207 (8): 622–627.
- Mez C. 1934-35. Bromeliaceae. In: Engler A. *Das Pflanzenreich*. Stuttgart: Heft 100, 1-667
- Michelangeli FA, Davis JI, Stevenson DW. 2003. Phylogenetic relationships among Poaceae and related families as inferred from morphology, inversions in the plastid genome, and sequence data from the mitochondrial and plastid genomes. *American Journal of Botany* 90: 93–106.
- Moreira BA, Cruz-Barros MAV, Wanderley MGL. 2005. Morfologia polínica de algumas espécies dos gêneros *Neoregelia* L. B. Sm. e *Nidularium* Lem. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta botanica brasílica* 19 (1): 61-70.
- Morra L, Dottori N, Cosa MT. 2002. Ontogenia y anatomia de semilla y fruto en *Tillandsia tricholepis* (Bromeliaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37 (3-4):193-201.

- Nandi OI, Chase MW, Endress PK. 1998. A combined cladistic analysis of angiosperms using *rbcl* and non-molecular data sets. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 137–212.
- Nogueira FM, Fagundes NF, Kuhn SA, Fregonezi jN, Mariath JEA. 2015. Ovary and ovule anatomy in the Nidularioid complex and its taxonomic utility (Bromelioideae-Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 177 (1): 66-77
- Novikoff AV, Odintsova A. 2008. Some aspects of comparative gynoecium morphology in three bromeliad species. *Wulfenia* 15:13–24.
- Ozanne CMP, Anhuf D, Boulter SL, Keller M, Kitching RL, Korner C, Meinzer FC, Mitchell AW, Nakashizuka T, Silva Dias PL, Stork NE, Wright SJ, Yoshimura M. 2003. Biodiversity Meets the Atmosphere: A Global View of Forest Canopies. *Science* 301: 183-6.
- Palací CA, Brown GK, Tuthill DE. 2004. The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Systematic Botany* 29:518–527.
- Papini A, Mosti S, Milocani E, Tani G, Di Falco P, Brighigna L. 2011. Megasporogenesis and programmed cell death in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Protoplasma* 248: 651–662.
- Pascal-Antoine Christin PA, Guillaume Besnard G, Samaritani E, Duvall MR, Hodkinson TR, Savolainen V, Salamin N. 2008. Oligocene CO₂ Decline Promoted C₄ Photosynthesis in Grasses. *Current Biology* 18: 37–43
- Pereira AR, Pereira TS, Rodrigues AS, Andrade ACS. 2008. Morfologia de sementes e do desenvolvimento pós-seminal de espécies de Bromeliaceae. *Acta Botanica Brasilica* 22 (4): 1150-1162.
- Pires JC, Sytsma KJ. 2002. A Phylogenetic Evaluation of a Biosystematic Framework: Brodiaea and Related Petaloid Monocots (Themidaceae). *American Journal of Botany* 89 (8): 1342–1359.

- Pita PB, Menezes NL. 2002. Anatomia da raiz de espécies de *Dyckia* Schult. f. e *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil), com especial referência ao velame. *Revista Brasileira de Botânica* 25 (1): 25-34.
- Ramírez I, Brown GK. 2001. The origin of the low chromosome number in *Cryptanthus* (Bromeliaceae). *Systematics Botany* 26: 722-726.
- Rao AN, Wee YC. 1979. Embryology of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. *New Phytologist* 83 (2): 485-497.
- Rauh W. 1991. *Guzmania undulato-bracteata*; a new combination. *Journal of the Bromeliad Society* 41 (1): 18-20.
- Reitz R. 1983. *Bromeliáceas e a malária - bromélia endêmica*. Itajaí: Flora Ilustrada Catarinense Herbário Barbosa Rodrigues.
- Royal Botanical Gardens, Kew - World checklist of selected plant families. Disponível em: <http://apps.kew.org/wcsp/>. Acesso em: 02 de Nov. 2015.
- Sajo MG, Prychid CJ, Rudall PJ. 2004a. Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. *Kew Bulletin* 59: 261-267.
- Sajo MG, Rudall PJ, Prychid CJ. 2004b. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. *Plant Systematics and Evolution* 247: 215-231.
- Sajo MG, Furness CA, Prychid CJ, Rudall PJ. 2005. Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. *Grana* 44: 65-74.

- Santos-Silva F, Saraiva DP, Monteiro RF, Pitab P, Mantovania A, Forzza RC. 2013. Invasion of the South American dry diagonal: What can the leaf anatomy of Pitcairnioideae (Bromeliaceae) tell us about it? *Flora* 208: 508–521.
- Sartori JS. 2008. *Desenvolvimento floral em Vriesea carinata Wawra (Tillandsioideae – Bromeliaceae)*. Unpublished D. Phil. Thesis. Federal University of Rio Grande do Sul.
- Sass C, Specht CD. 2010. Phylogenetic estimation of the core bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 559–571.
- Scatena VL, Segecin S, Coan EI. 2006. Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the “Campos Gerais”, Paraná, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49 (6): 945- 951.
- Silva FS. 2011. *Estudos ontogenéticos e histoquímicos de frutos em espécies de Bromeliaceae Juss.* Unpublished D. Phil. Thesis. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Silva IV, Scatena VL. 2011. Morfologia de sementes e de estádios iniciais de plântulas de espécies de Bromeliaceae da Amazônia. *Rodriguésia* 62 (2): 263-272.
- Smith LB, Pittendrigh CS. 1953. Realignment in the Bromeliaceae subfamily Tillandsioideae. *Journal of the Washington Academy of Sciences* 43: 401-404.
- Smith LB, Downs RJ. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). In: Zanoni T, ed. *Flora Neotropica Monograph*. New York: Hafner Press, 1-662
- Smith LB, Downs RJ. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). In: Zanoni T, ed. *Flora Neotropica Monograph*. New York: Hafner Press, 663- 1492.
- Smith LB, Downs RJ. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae). In: Zanoni T, ed. *Flora Neotropica Monograph*. New York: Hafner Press, 1493-2142.

- Sousa GM, Estelita MEM, Wanderley MGL. 2005. Anatomia foliar de espécies brasileiras de *Aechmea* subg. *Chevaliera* (Gaudich, ex Beer) Baker, Bromelioideae - Bromeliaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 28: 603-613.
- Sousa GM, Wanderley MGL, Cruz-Barros MAV. 1997. Morfologia polínica de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) de Pernambuco, Brasil. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 16: 21-30.
- Souza RCOS, Neves LJ. 1996. Leaf anatomy of four *Tillandsia* species. *Bromélia* 3: 28-39.
- Souza FC, Mendonça CBF, Gonçalves-Esteves V. 2004. Estudo polínico de espécies de Pitcairnioideae e Tillandsioideae (Bromeliaceae Juss.) ocorrentes na restinga de Carapebus, Estado do Rio de Janeiro. *Arquivos do Museu Nacional* 62 (1): 15-23.
- Spat C. 2012. *Embriologia de Tillandsia aeranthos (Lois.) L. B. Sm. (Tillandsioideae-Bromeliaceae)*. Unpublish D. Phil. Thesis. Federal University of Santa Maria.
- Spencer MA, Smith LB. 1993. *Racinaea*, a new genus of Bromeliaceae (Tillandsioideae). *Phytologia* 74(2): 151-160.
- Strehl T, Beheregaray RCP. 2006. Morfologia de sementes do gênero *Dyckia*, subfamília Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Pesquisas Botânica* 57: 103-120.
- Tardivo RC, Rodrigues WA. 1998. Pólen e estigma das espécies de *Nidularium* Leme e *Canitrum* E. Morren (Bromeliaceae) ocorrentes no Estado do Paraná. *Biotemas* 11 (1): 7-16.
- Terry RG, Brown GK. 1996. A study of evolutionary relationships in Bromeliaceae based on comparison of DNA sequences from the chloroplast gene *ndhF*. *Journal of Bromeliad Society* 46: 107-112.

- Terry RG, Brown GK, Olmstead RG. 1997a. Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. *American Journal of Botany* 84: 664–670.
- Terry RG, Brown GK, Olmstead RG. 1997b. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) using *ndhF* Sequences. *Systematic Botany* 22 (2): 333–345.
- Till W. 2000. Tillandsioidea. In Benzing DH ed. *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Utley JF. 1978. A new combination in *Guzmania* (Bromeliaceae). *Phytologia* 40 (1): 55-57.
- Utley JF. 1983. A revision of the Middle American thecophyloid Vrieseas (Bromeliaceae). (Tulane Studies in Zoology and Botany). *Tulane Studies in Zoology and Botany* 24: 1-81.
- Utley JF, Luther HE. 1991. Studies in Middle American Bromeliaceae II. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 78: 270.
- Varadarajan GS, Brown GK. 1988. Morphological variation of some floral features of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) and their significance in pollination biology. *Botanical Gazette* 149 (1): 82-91.
- Varadarajan GS, Gilmartin AJ. 1988. Taxonomic realignments within the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Systematic Botany* 13 (2): 294-299.
- Versieux LM, Barbará T, Wanderley MG; Calvente A, Fay MF, Lexer C. 2012. Molecular phylogenetics of the Brazilian giant bromeliads (*Alcantarea*, Bromeliaceae): implications for morphological evolution and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 64: 177-189.
- Vervaeke I, Delen R, Wouters J, Deroose R, De Proft MR. 2003. Flower biology of six cultivars of the Bromeliaceae. I. Pollen, pistil, and petal appendages. *Selbyana* 24 (1): 78-86.

- Wanderley MGL, Melhem TS. 1991. Flora polínica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga - Família 178- Bromeliaceae. *Hoehnea* 18 (1): 5-42.
- Wanderley MGL, Shepherd GJ, Melhem TS, Giuliatti AM. 2007. *Flora fanerogâmica do estado de São Paulo*. v. 5. São Paulo: FAPESP.
- Wanderley MGL, Martins S. 2007. Bromeliaceae. In: Wanderley, M, Shepherd G, Giuliatti A. *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo* v. 5. São Paulo: FAPESP
- Weber W, Smith LB. 1983. A new combination in *Mezobromelia*. *Journal of Bromeliad Society* 33 (3): 121-122.
- Wee YC, Rao AN. 1974. Gametophytes and seed development in pineapple. *Current Science* 43: 171-173.

CAPÍTULO II

Morphoanatomy of the ovary and ovule of Tillandsioideae (Bromeliaceae) and its systematic relevance.

Abstract

The subfamily Tillandsioideae is composed by nine genera, most of them with a very unclear delimitation. The morphoanatomy of ovule and ovary of 83 species belonging to seven different genera was studied under light and scanning electron microscopy to contribute to the understanding of the relationships within the group. The nucellar epidermis and the parietal tissue presented a regular pattern for all Tillandsioideae. However the presence of the chalazal appendages, their shape and size, vary between each genera analyzed. Most species have single acuminate chalazal appendage and only *Catopsis* has multiple appendages. *Guzmania* and *Racinaea* do not show this structure. The integuments also present a variable length and thickness among different genera. The four to six layers of outer integument are unique in *Catopsis* and the three layers condition in the inner integument of *Tillandsia* should be a retained feature since it is also observed in *Catopsis*. Many characteristics in ovule morphology here presented revealed great systematic value to distinguish Tillandsioideae genera. Besides, those features can also provide interesting finds to understand ovule evolution in Bromeliaceae as a whole.

Keywords: Female gametophyte - Monocots - plant embryology - Poales - *Racinaea*- *Tillandsia* - *Vriesea* - *Werauhia* - *Catopsis* - *Guzmania*

Introduction

Tillandsioideae species are well known for their mainly epiphytic habits, leaves with entire margins, septicidal capsules and seeds with plumose appendages (Smith & Downs, 1977). Together with other subfamilies of Bromeliaceae they greatly contribute to the total epiphytic flora richness of Neotropical forests (Kessler, 2001; Krömer *et al.*, 2005; Linares-Palomino *et al.*, 2009; Linares-Palomino & Kessler, 2009). Due to their colorful inflorescences many species have become very important horticultural plants, with many popular publications about the family.

Bromeliaceae is an early divergent family of Poales (APG III, 2009; Givnish *et al.*, 2007) and the phylogenetic relationships and circumscriptions of its subfamilies are now clearer, with eight subfamilies established: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Hechtioideae, Navioideae, Tillandsioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae and Bromelioideae (Givnish *et al.*, 2007, 2011). Although subfamilies are now well delimited, generic limits and relationships are not yet fully understood and consequently changes at this level are frequent (Barfuss *et al.*, 2005; Schulte, Barfuss & Zizka, 2009; Sass & Specht, 2010; Givnish *et al.*, 2011; Costa, Rodrigues & Wanderley, 2009; Gomez da Silva *et al.*, 2012; Gomez da Silva & Costa, 2013).

The monophyly in Tillandsioideae was verified by morphology and molecular data (Terry & Brown, 1996; Horres *et al.*, 2000; Crayn, Winter & Smith, 2004; Givnish *et al.*, 2007, 2011; Escobedo-Sarti *et al.*, 2013; Gilmartin & Brown, 1987; Barfuss *et al.*, 2005) and according to Luther (2014) the subfamily is composed by approximately 1362 species distributed in nine genera: *Alcantarea* (E. Morren ex Mez) Harms (28 spp.), *Catopsis* Griseb. (18 spp.), *Glomeropitcairnia* (Mez) Mez (2 spp.), *Guzmania* R. & Pav. (210 spp.), *Mezobromelia* L. B.

Sm. (9 spp.), *Racinaea* M. A. Spencer & L. B. Smith (65 spp.), *Tillandsia* L. (620 spp.), *Vriesea* Lindl. (266 spp.) and *Werauhia* J. R. Grant (87 spp.). In Espejo-Serna (2002) proposed a new genus, named *Viridantha*, that was formerly included in *Tillandsia* Subgen. *Allardtia*, however this classification has not been universally accepted (Luther & Sieff, 1997; Luther, 2000).

Over the last century, several changes were made in the generic limits of Tillandsioideae. Species from *Guzmania* were transferred to *Mezobromelia* (Utley & Luther, 1991); species from *Tillandsia* were placed in *Guzmania* (Rauh, 1991), *Mezobromelia* (Weber & Smith, 1983) and *Racinaea* (Grant, 1993a, 1994b; Spencer & Smith, 1993) and species from *Vriesea* were also transferred to *Alcantarea* (Grant, 1995a), to *Guzmania* (Utley, 1978), to *Mezobromelia* (Utley & Luther, 1991; Grant, 1993a), to *Werauhia* (Grant, 1995a, b), and to *Tillandsia* (Grant, 1993b, 1994a, 1995b). All these changes probably occurred by the usage of questionable diagnostic morphological characters (Benzing, 1980; Brown & Terry, 1992) and because many materials came from dried plants (Baker, 1889; Mez, 1934-35; Smith & Downs, 1977) resulting in many misinterpretations of floral structures.

Only *Catopsis* and *Glomeropitcairnia* are clearly defined, with an early divergent placement in the subfamily (Gilmartin *et al.*, 1989; Terry, Brown & Olmstead, 1997ab; Horres *et al.*, 2000; Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2007, 2011, 2014). The most heterogeneous genera are *Guzmania*, *Mezobromelia*, *Tillandsia*, and *Vriesea* and all of them are para-polyphyletic (Brown & Gilmartin, 1984, 1989; Böhme, 1988; Gross, 1988; Halbritter, 1992; Terry & Brown, 1996; Terry *et al.*, 1997b; Horres *et al.*, 2000; Crayn *et al.*, 2004; Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2011; Gomes da Silva *et al.*, 2012). The monophyly of *Alcantarea* (Versieux *et al.*, 2012), *Werauhia* and *Viridantha* (Barfuss *et al.*, 2005) was established and the status of *Racinaea* remains questionable (Horres *et al.*, 2000; Barfuss *et al.*, 2005). Therefore, in order to establish

natural groups Barfuss *et al.*(2005) proposed a four-tribe classification: Catopsideae (*Catopsis*), Glomeropitcairnieae (*Glomeropitcairia*), Vrieseae (*Vriesea*, *Werauhaia*, *Alcantarea*), and Tillandsieae (*Guzmania*, *Mezobromelia*, *Racinaea*, *Tillandsia*, and *Viridantha*).

Considering this unstable scenario a set of new data, from both nuclear genome and morphological characters, are required (Gomes da Silva & Costa, 2013). The embryological characters that included the development of anthers, ovules and seeds are useful in study of plant phylogeny (Tobe, 1989; Igersheim & Endress, 1998; Endress & Igersheim 2000; Igersheim, Buzgo & Endress, 2001; Endress, 2005, 2011a; Gross, 1988; Sajo, Prychid & Rudall, 2004; Magalhães & Mariath, 2012; Fagundes & Mariath, 2014; Nogueira *et al.*, 2015) and together with different sources of data can reconstruct the evolutionary history of plant families (Plachno & Swiatek, 2009). Ovules are conservative structures which are less affected by environmental changes, but when specific variations are constant in large clades, they are of special interest in macrosystematics (Tobe, 1989; Endress, 2011b).

In order to provide a better understanding of the relationships within Tillandsioideae, this work aims to analyze the morphoanatomy of the ovary and ovule of a broad survey, containing 83 species distributed in seven genera of the subfamily.

Materials and methods

Plant material

Mature flowers of 83 species belonging to seven genera of Tillandsioideae from different places in Central and South America were collected from living collections of the Plant Anatomy Laboratory (LAVeg) at the Federal University of Rio Grande do Sul(Rio Grande do Sul- Brazil), The Zoobotanical Foundation of Porto Alegre (Rio Grande do Sul- Brazil) and Marie Selby Bo-

anical Garden (Florida - United States). The specimen data are summarized in Table 1 (the specific locality of material was provide whenever available).

Preparation for Light Microscopy (LM)

To prepare histological sections, the material was fixed in 1% glutaraldehyde and 4% formaldehyde in 0.1 M sodium phosphate buffer, pH 7.2 (McDowell & Trump, 1976), washed in sodium phosphate buffer 0.1M, pH 7.2, (Gabriel, 1982), dehydrated in an ethanol series (10–100%) and embedded in (2-hydroxyethyl - methacrylate) (Gerrits & Smid, 1983). Thin sections (4 µm-thick), using a Zeiss rotatory microtome were stained with Toluidine Blue O 0.05%, pH 4.4 (O'Brien & McCully, 1981). Photomicrographs were acquired under bright field microscopy, using a Leica DMR microscope and photomicrographs using a Leica M165 FC stereomicroscope, with a Leica DFC 500 digital camera and the Leica Application Suite (LAS software, version 4.1).

Preparation for Scanning Electron Microscopy (SEM)

The samples were dehydrated in an acetone series and dried using the critical-point method (Gerstberger & Leins, 1978), with BAL-TEC, CPD 030 equipment. The samples were then mounted onto stubs and coated with gold using a BAL-TEC SCD 050 sputtering device. Observations and electron micrographs were performed with a JEOL JSM 6060 microscope under 30 kV.

Results

The Tillandsioideae species analyzed show a superior ovary (Fig. 1 A) or nearly superior, in *Alcantarea simplicisticha* Leme & A.P.Fontana. This structure is tricarpetal, trilocular with axial placentation (Fig. 1 B).

The mesophyll of the ovary is comprised of homogenous parenchyma with isodiametric cells, low intercellular spaces and idioblasts containing raphides (Fig. 1C-F) mostly concentrated at the basal portion of the ovary. The Tillandsioideae species have many ovules in each locule. The orientation of ovules, in relation to the longitudinal axis of the ovary, ranges from vertically oriented, at the apical portion of the ovary, to oblique oriented, at the basal portion of the ovary (Fig. 1G-H). However the number of columns of ovules in each locule varies from two (Fig.1C) to twenty (Fig. 1 E) depending on the species. *Catopsis* species shows 2 or 4 ovule columns in each locule, *Racinaea spiculosa* (Griseb.) M.A.Spencer & L.B.Sm. shows 4 columns, most *Tillandsia* species show 6 columns, *Vriesea* shows from 6 to 14 columns, *Alcantarea* species show about 10, *Guzmania* species show from 6 to 14 ovule columns and *Werauhia* species show 18 or 20 ovule columns per locule. At maturity the ovules are anatropous and bitegmic, and the outer integument is always attached to the funiculus (Fig. 1 H-I).

The chalazal appendages are widely observed in Tillandsioideae and although this structure shows two different morphologies, it is always originated by subdermal cells divisions (Fig. 2 B-E). All species from *Werauhia*, *Catopsis* and *Alcantarea* and most species from *Vriesea* and *Tillandsia* exhibit this structure. All species from *Guzmania* and *Racinaea spiculosa* do not show chalazal appendage (Fig. 2A).

There are two morphologies of chalazal appendages. In *Vriesea*, *Tillandsia*, *Alcantarea* and *Werauhia* it is single, elongated with a slight curvature and in *Catopsis* there are multiple chalazal appendages, that are elongated without curvature (Fig. 2D).

The length of the chalazal appendages also varies among species within the subfamily. It can be “vestigial” like in two species of *Tillandsia*; it can be short, which means that it is less than half the ovule length as can be shown in *Werauhia* species, all species of *Tillandsia* subgen.

Anoplophytum and some *Vriesea* (Fig. 2B). The chalazal appendage can be long, when its length is greater than half the ovule length, like some species of *Tillandsia* and *Vriesea* (Fig. 2C). And it can be very long, when its length is equal to or greater than the ovule length, like in all species of *Alcantarea*, *Catopsis* and *Tillandsia* subg. *Tillandsia*, and in some species of *Tillandsia* belonging to other subgenera and many species from *Vriesea* (Fig. 2D).

The integuments present a variable length and thickness among the species. In ovules of all *Werauhia* species, all species of *Vriesea* sect. *Xiphion* and most *Vriesea* sect. *Vriesea* species, the outer integument is longer than the inner integument (Fig. 3A, C), whereas most species from *Tillandsia*, species from *Catopsis*, *R. spiculosa* and *A. simplicisticha* Leme & A.P. Fontana the inner integument is longer than the outer integument (Fig. 3B, D). Species from *Guzmania* show both characters state occur.

The outer integument is four to six layers thick in *Catopsis* species (Fig. 4A, B) whereas all the other species present the outer integument comprised of three complete cell layers (Fig. 4 C, D, E, F). The inner layer of the outer integument is anticlinally elongated in *A. simplicisticha* and *T. dura* (Fig. 4 E, F).

Species from *Vriesea*, *Alcantarea*, *Racinaea*, *Guzmania* and *Werauhia* show the inner integument comprised of two complete cell layers (Fig 4 G, H, M, N). However the inner layer is anticlinally elongated at the micropylar portion and can divide to form three layers with dome shape periclinal walls (Fig. 4G, H). In *R. spiculosa*, *Vriesea platynema* Gaudich, *Vriesea corcovadensis* Mez and *Vriesea incurvata* Gaudich., the inner integument shows one median layer at the chalazal portion, however it never reaches more than two to three cells length (Fig. 4 I, J). Species from *Catopsis* and most species from *Tillandsia*, show the inner integument com-

prised of three complete cell layers, whose inner layer divides, adding one or more layers at the micropylar portion (Fig. 4K, L, O, P).

The nucellar epidermis consists of one cell layer in most species analyzed. The longitudinal section of these cells is rectangular, however at the micropylar portion they are elongated and in some species it may divide and form up to three cells (Fig. 5 A-C). The number of layers in the parietal tissue of Tillandsioideae varies from one to three layers, although the bi-layered condition is the most commonly observed (Fig. 5 A-D).

The gametophyte shape also varies among species belonging to Tillandsioideae and two different types have been identified, one elongated (Fig. 5D) and the other elliptic (Fig. 5E).

The presence of raphids at the chalazal portion of the ovule was examined in *Tillandsia streptocarpa* Baker and *Tillandsia festucoides* Brongn. ex Mez (Fig. 5 F-G).

All the significant anatomical characters evaluated in this study are shown in Table 2, and Table 3 shows a summary chart of the relevant features observed in Tillandsioideae.

Discussion

The present study analyzed 83 species belonging to seven genera of the Tillandsioideae subfamily. Some characters do not exhibit significant variations in the subfamily, such as ovule orientation, number of integuments, thickness of the parietal tissue and nucellar epidermis. However many of them showed constancy or an expected pattern for a given genus or subgenus and some of them appear as a synapomorphy in the same way. The systematic value of ovule characters has long been noted, and authors have usually demonstrated the utility of embryological information in clarifying relationships among taxa (*e.g.* Maheshwari, 1950; Palser, 1975; Herr, 1984; Tobe, 1989; De Toni & Mariath, 2010).

Regards to the ovary, all species in this study presented superior ovary, except *Alcantarea*. According Till (2000), that corroborates our findings, Tillandsioideae have superior ovary, except in *Glomeropitcairnia* where the pistil is about half-inferior. This genus was initially placed in Pitcairnioideae (Mez, 1934-35) because the ovary, type of indehiscent capsule and presence of apical and basal appendages in the seeds. Currently, the inclusion of *Glomeropitcairnia* in Tillandsioideae is clearly defined (Gilmartin *et al.*, 1989; Terry *et al.*, 1997ab; Horres *et al.*, 2000; Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2007, 2011, 2014) and the half-inferior ovary is interpreted as an autapomorphy. Although the half-inferior ovary has been described as an exclusive feature of *Glomeropitcairnia*, Coffani-Nunes *et al.* (2010) pointed out that *Alcantarea* also exhibits this character state, which is currently used to differ this genus from *Vriesea* (Coffani-Nunes *et al.*, 2010; Versieux *et al.*, 2012).

The number of ovules per carpel was discussed in an evolutionary context by many authors (Endress & Doyle, 2000; Endress & Doyle, 2009; Burd *et al.*, 2009; Fagundes & Mariath, 2014). In Tillandsioideae there is a clear pattern of ovule number in each genus. Although all Tillandsioideae genera showed many ovules per carpel, there are differences related to the amount of ovules in each of them. *Catopsis* and *Racinaea* have a relatively small quantity of ovules per carpel when compared with the other genera. In *Tillandsia* six columns of ovules in the locule is widely observed, however there are some exceptions: *Tillandsia usneoides* (L.) L. and *Tillandsia neglecta* E.Pereira have an expressive smaller quantity. Otherwise, *Tillandsia dyeriana* André, Planch., *Tillandsia pretiosa* Mez, *Tillandsia lindenii* Regel and *Tillandsia cyanea* Linden ex K. Koch have an expressive greater quantity of ovules per carpel. *Guzmania*, *Alcantarea* and *Vriesea* showed many columns of ovule in the locule, and only one specie devi-

ated of the pattern excepted to *Vriesea*, *Vriesea drepanocarpa* Mez, that has four columns of ovules in the locule. *Werauhia*, showed many columns of ovules in the locule.

The presence of a great amount of ovule per carpel could be associated with the habitat of a given plant where pollination is uncertain (Burd *et al.*, 2009). In this way, many ovules per carpel would be an adaptation to unpredictable fertilization opportunities at the floral level. According to Endress (2011b) many ovules are also related to highly specialized ecological situations, such as parasitism and epiphytism, and the great ovule number increases its successful reproduction. In the evolutionary context the increase of ovule number in late divergent angiosperms is accompanied by a smaller size of the ovule that results in an enlarged diversity in dispersal biology (Igersheim & Endress, 1998; Igersheim *et al.*, 2001).

Mez (1934-35) has already pointed out that *Catopsis*, which is early divergent in Tillandsioideae (Terry *et al.*, 1997a; Horres *et al.*, 2000; Givnish *et al.*, 2011; Barfuss *et al.*, 2005), has few ovules per carpel. This result agrees with the statement of Fagundes & Mariath (2014) that few ovules per carpel might be a plesiomorphic character state in Poales, based on the fact that this character state is present in Brocchinioideae, early divergent subfamily of Bromeliaceae (Givnish *et al.*, 2011), and in the early divergent genera of Bromelioideae, named *Ananas* (Sass & Specht 2010) and in early divergent genera of Tillandsioideae, named *Catopsis* (Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2011). This character state is also present in and in Rapateoideae, an early divergent genera of Rapateaceae (Givnish *et al.*, 2000, 2004). Both of these families are early divergent in Poales (Linder & Rudall 2005; Givnish *et al.*, 2010).

Although the other genera of Tillandsioideae sampled in this study show a great number of ovules per carpel, *R. spiculosa*, that is placed in a different clade from *Catopsis* and has a late divergent position in Tillandsioideae (Barfuss *et al.*, 2005), also presents few ovules per carpel.

In this way, these results raise some questions about the subsequent evolution of this character. According to Doyle & Endress (2000) and Endress & Doyle (2009) who made a broad study at different taxonomic levels in Angiosperms to clarify the ancestral condition of ovule number and its subsequent evolutionary steps, there is the possibility of retention or secondary reduction of ovules number in late divergent families or genera, taking into account that a small amount of ovules per carpel is a plesiomorphic state of character. Since *R. spiculosa* was included in the *Tillandsia* s.l. group (Smith & Downs, 1977) which is an assemblage of several distinct lineages and is late divergent in Tillandsioideae (Barfuss *et al.*, 2005), it is plausible to consider both possibility, retention or secondary reduction, to explain the small number of ovules in *Racinaea*.

V. drepanocarpa is the only species that deviated from the ovules number pattern expected for *Vriesea* and presents the same amount of ovules observed in the *Tillandsia* species. Although this species has been placed in the *Vriesea* genus, its position has always been questionable, since a very similar specimen, originally named as *Tillandsia pabstiana* E.Pereira (which lacks petal appendages), was recognized as synonym under *Vriesea drepanocarpa* (Baker) Mez (which has petal appendages). Nevertheless, Smith & Downs (1977) noted an overall similarity between these two taxa and did not find justification to maintain *T. pabstiana* as a distinct species. While the generic circumscriptions based on the presence or absence of petal appendages remain very questionable (Brown & Terry, 1992), the number of ovules per carpel of *V. drepanocarpa* might be an important characteristic, and help to understand its real position in Tillandsioideae.

The relationships between species based on the “number of ovules per carpel” was also pointed out by Fagundes & Mariath (2014) who highlighted the occurrence of different amount of ovules per carpel, few and many, in species of *Aechmea*. Therefore the placement of the *Aechmea* species analyzed by molecular studies is corroborated by morphological data based in

number of ovules per locule presented by Fagundes & Mariath (2014). The result here presented also corroborates the statement that the number of ovules might be a relevant character for the taxonomy since it may distinguish patterns for each genus in Tillandsioideae.

Although the basic structure of the ovule in Tillandsioideae is very conservative, there are some differences that reflect generic patterns and specific characteristics in the subfamily, such as: length and thickness of integuments, presence or absence of chalazal appendages and morphology of chalazal appendages.

The ovules of Tillandsioideae species are anatropous and bitegmic. Those characteristics have already been described for all Bromeliaceae subfamilies (Sajo *et al.*, 2004; Palací, Brown & Tuthill, 2004; Sartori, 2008; Fagundes & Mariath, 2014; Nogueira *et al.*, 2015) and according to Bouman (1984) both conditions are common in angiosperms, and the bitegmy is also common in other monocotyledons. Endress (2011b) postulated that the thickness of the integument in monocots does not vary much and generally the outer integument is thicker than the inner, but in Poales both integuments commonly present the same thickness. Our results partially agree with Endress' (2011b) statement since most of the genera studied have the typical pattern expected for monocots, i.e., the outer integument thicker than the inner. However in the genus *Tillandsia* both integuments show the same thickness.

In Tillandsioideae the outer integument exhibits a very conservative number of three layers of thickness, nevertheless this character varies between the genera. The exception is *Catopsis* which presents four to five layers.

In accordance with our results, Sartori (2008) reported three layers in the outer integument of *Vriesea carinata* Wawra, Spat (2012) and Papini *et al.* (2011) also described three layers in *Tillandsia aeranthos* (Loisel.) L.B.Sm. and Palací *et al.* (2004) have found up to six layers in the

outer integument of *Catopsis paniculata* hort. ex Gentil. According to Fagundes & Mariath (2014) the two-layered outer integument might be the ancestral state for Poales since it is present in early divergent subfamilies of Bromeliaceae (Brocchinioideae and Lindmanioideae) and in Typhaceae. Although *Catopsis* is early divergent in Tillandsioideae (Barfuss *et al.*, 2005; Givinish *et al.*, 2011) the multilayered condition of its outer integument might be considered an evolutionary novelty for the family. The remaining genera of Tillandsioideae probably indicate the retention of a plesiomorphic state since all of them showed the three-layered condition.

The occurrence of two layers in the inner integument is widely observed in Bromeliaceae, as reported by the following species: *Brocchinia reducta* Baker, Brocchinioideae (Sajo *et al.*, 2004); *Lindmania penduliflora* (C.H.Wright) Stapf, Lindmanioideae (Lakshmanan, 1967), *V. carinata*, Tillandsioideae (Sartori, 2008); *Puya floccosa* E.Morren ex Baker, Puyoideae (Sajo *et al.*, 2004), *Pitcairnia encholirioides* L.B.Sm., Pitcairnioideae (Mendes, Costa & De Toni, 2012); *Ananas comosus* (L.) Merr., Bromelioideae (Wee & Rao, 1974; Rao & Wee, 1979); in six species of the Nidularioid complex, Bromelioideae (Nogueira *et al.*, 2015) and in *Billbergia nutans* H. Wendl. ex Regel, Bromelioideae (Fagundes & Mariath, 2014). The presence of a three layered inner integument was only reported in *Tillandsia usneoides* (Billings, 1904), *T. recurvata* L. (Birge, 1911), *T. aeranthes* (Papini *et al.*, 2011; Spat, 2012), and in 33 species of *Tillandsia* and in species of *Catopsis* presented here. These results indicate that this feature might have appeared for the first time in some species of *Catopsis* and after that, appeared in the *Tillandsia* species as a retained character.

The inner integument also has a stable number of two layers thick in most Tillandsioideae genera. Nevertheless, the presence of three layers in the inner integument is constant in *Tillandsia*, and only six of the 33 analyzed species do not show this pattern. In the molecular phyloge-

netic analysis of Barfuss *et al.*, (2005) two of those six species, *T. lindenii* and *Tillandsia dodsonii* L.B.Sm, were sampled and placed in sister clades. *T. lindenii* also forms a well-supported clade with *R. spiculosa* that also shows a thickness of two layers. Therefore, these results reinforce the close relation among those three species.

Our results also suggest that the integument length is a remarkable character in Tillandsioideae. In *Vriesea* and *Werauhia* species, the outer integument longer than the inner integument is widely observed, but in the *Catopsis* species, *R. spiculosa* and in most of *Tillandsia* species this character is not present. The species of *Vriesea* that do not show outer integument longer than the inner integument are *V. barclayana*, which is placed in the *Tillandsia* clade in molecular studies, and *V. chrysostachys*, which is placed in the Andean members of *Vriesea* sect. Xiphion (Barfuss *et al.*, 2005). *V. carinata* showed outer integument longer than the inner integument (Sartori, 2008) and was placed in the eastern Brazilian clade (Barfuss *et al.*, 2005), in the same way as our results in which the majority of *Vriesea* specimens sampled were from eastern Brazilian localities. In *Tillandsia* only three species of 33 analyzed presented outer integument longer than the inner integument, *T. cyanea*, *Tillandsia latifolia* Meyen, *Tillandsia c.f. cacticola* L.B.Sm. Our morphological results agree with molecular studies and reinforces the idea that the integument length is a feature that presents great systematic value since *V. barclayana* has a dubious position in the *Vriesea* genus, and *V. chrysostachys* and *V. carinata* are placed in different clades.

Micropyle types in bitegmic ovules show some systematic patterns and in the majority of monocots and early divergent angiosperms, it is formed by the inner integument (Endress, 2011). In this study we consider that all the analyzed species have a micropyle formed by the inner integument, even those that showed the outer integument longer than the inner one. This observa-

tion was made since none of the analyzed species showed the typical feature of micropylar cells in the inner layer of outer integument. Conversely the outer integument present great value in seed formation because it will become the plumose appendages of seeds as suggested by Gross (1988), Palací *et al.* (2004) and Smith & Downs (1977) and was named as micropylar appendages by Sajo *et al.* (2004).

None of the species of *Guzmania*, and *R. spiculosa* analyzed presented chalazal appendages. This result reinforces the findings of Sajo *et al.* (2004) in *Guzmania madisonii* H.Luther. All *Werauhia* species showed short chalazal appendages and *Catopsis* and *A. simplicisticha* displayed a very long chalazal appendage. The genera *Vriesea* and *Tillandsia* are more variable and present different lengths of chalazal appendages. Nevertheless, *Tillandsia* showed remarkable subgeneric patterns and *Vriesea* interesting findings. All species of *Tillandsia* subg. *Tillandsia* present very long chalazal appendages and all species of *Tillandsia* subg. *Anoplophytum* species present short chalazal appendages. In all the remaining *Tillandsia* subgenera this character showed great variation. These findings support the results of molecular phylogeny once *Tillandsia* subg. *Anoplophytum* and *Tillandsia* subg. *Tillandsia* form strongly supported clades and the other subgenera form a large, but internally, partly unresolved clade (Barfuss *et al.*, 2005), as a consequence of the variability of this group.

It is also interest to note that the species of *Tillandsia* that deviate of the expected pattern to the genus in one or more of the characters (many ovules in the locule, outer integument longer than the inner, two layers in the inner integument and chalazal appendage vestigial or absent) were species from *Tillandsia* subg. *Phytarrhiza* (*T. dyeriana* André, *T. cyanea*, *T. pretiosa*, *T. lindenii*, *T. dodsonii*, *T. c.f. cacticola*) and from *Tillandsia* subg. *Allardtia* (*T. latifolia*) that are native to Ecuador or North of Peru (Smith and Downs, 1977), which are a special center of high-

est diversity of the genus (Till, 2000). It is important to emphasize that *T. dyeriana*, *T. cyanea*, *T. pretiosa*, *T. lindenii*, *T. dodsonii* and *T. latifolia* are the only species that share the last two characters states described above. Gilmartin's (1983) findings corroborate the proximity of these species in a study in *Vriesea* and *Tillandsia* which employed overall resemblance and phylogenetic analyzes based on morphologic data to infer historic alignments among the mesophytic, semixerophytic and xerophytic habits. The authors highlight the close affinity of *T. cyanea*, *T. lindenii* and *T. pretiosa* that are in the same group, together with other semixeric Ecuadorian taxa with simple inflorescences. Nearly located, *T. dodsonii* and *T. dyeriana* are placed at the center of the network, together with other fully mesic species with mostly compounded inflorescences and broad leaves.

Related to *Vriesea*, the species *Vriesea splendens* (Brongn.) Lem., which shows a short chalazal appendage, was placed in an early divergent clade of *Vriesea* l.s with species of *Werauhia* (Barfuss *et al.*, 2005). Our data corroborate the molecular phylogeny results since all *Werauhia* species also presented small chalazal appendages.

Although the chalazal appendages of *Catopsis* have been described as a hairy structure by Sajo *et al.* (2004) and Palací *et al.* (2004), our analyses showed that each one of the structures forming this appendage is constituted by dermal and subdermal layers and, then, it is more appropriate to consider this structure as multiple chalazal appendages, since it is formed by dermal and subdermal layers.

Therefore, even though the chalazal appendages have a rather variable morphology within Bromeliaceae (Fagundes & Mariath, 2014), this feature showed great value for the systematics of Tillandsioideae, since in species which had two populations sampled, no infraspecific variation was observed.

Regarding the gametophyte shape, even though our results showed some variation, no clear pattern was observed among genera, that could be applied in the taxonomic context.

The parietal tissue of the specimens analyzed here varies in thickness from one to three layers. However the one-layered condition of the parietal tissue seems to be caused by a crushing process of the middle layers due to the embryo sac expansion. Therefore, parietal tissue of Tillandsioideae usually forms two-three layers. The crassinucellate condition of the ovule in Bromeliaceae has already been described in many studies (Billings, 1904; Lakshmanan, 1967; Wee & Rao, 1974; Rao & Wee, 1979; Sajo *et al.*, 2004; Palací *et al.*, 2004; Papini *et al.*, 2011; Spat, 2012; Sartori, 2008; Mendes, 2008; Mendes *et al.*, 2012; Conceição, De Toni & Costa, 2007) and Fagundes & Mariath (2014) outlined the thickness of this structure in an evolutionary overview proposing that the reduced form - one - layered condition - might be plesiomorphic in Bromeliaceae since it was observed in the early divergent genus, *Brocchinia* (Sajo *et al.*, 2004, Givnish *et al.*, 2007). Although the parietal tissue has been pointed out as a valued feature in the taxonomy of the Nidularioid complex (Nogueira *et al.*, 2015), in Tillandsioideae this character does not help to understand its generic relationships. However these data could provide useful findings for comprehension of ovule evolution in Bromeliaceae as a whole.

The nucellar epidermis in the micropylar region of Tillandsioideae commonly shows periclinal divisions. The elongated shape of epidermal cells was observed in many monocots families (Rudall, 1997) and according to Linder & Rudall (1993) this character state is a synapomorphy and links Restionaceae to Centrolepidaceae. Although Rudall (1997) had postulated that this character is absent in Bromeliaceae, the presence of elongated nucellar epidermis has already been observed in the three traditional Bromeliaceae subfamilies (Sajo *et al.*, 2004; Fagundes & Mariath, 2014; Nogueira *et al.*, 2015) and only in Bromelioideae there are cases of

absence of this feature (Sajo *et al.*, 2004; Nogueira *et al.*, 2015). The periclinal division of the nucellar epidermis is usual in angiosperms, which leads to its participation in the parietal tissue formation (Johri, Ambegaokar & Srivastava, 1992). In Bromeliaceae it is not widely observed and has been reported only in *Brocchinia* (Sajo *et al.*, 2004), some species of the Nidularioid complex of Bromelioideae (Nogueira *et al.*, 2015) and in our results. Thus it would only be possible a better explanation about this feature with a broader sample of Bromeliaceae subfamilies.

Conclusions

There are many characteristics in ovule morphology that can help understand its evolutionary patterns and also might be useful in the taxonomy, since it showed great value in genera delimitation in Tillandsioideae. In this way, we must highlight the following characters: the subdermal origin of chalazal appendages, the presence of few ovules per carpel in *Catopsis* and *Racinaea*; many ovules per carpel in *Tillandsia*, *Guzmania*, *Vriesea* and *Alcantarea* and lots of ovules per carpel in *Werauhia*. The outer integument is longer than the inner integument in *Vriesea* and *Werauhia* and does not in *Catopsis*, *Alcantarea*, *Tillandsia* and *Racinaea*. The outer integument shows three cells layers in *Werauhia*, *Vriesea*, *Alcantarea*, *Guzmania*, *Tillandsia* and *Racinaea* and four to five layers in *Catopsis*. The inner integument has two layers in *Werauhia*, *Vriesea*, *Alcantarea*, *Guzmania*, *Racinaea* and three cells layers in *Tillandsia* and *Catopsis*. Chalazal appendages are absent in *Guzmania* and *Racinaea*, small in *Werauhia* and *Tillandsia* subg. *Anoplophytum*, and very long in *Alcantarea*, *Catopsis* and *Tillandsia* subg. *Tillandsia*.

Acknowledgements

We thank the Laboratory of Plant Anatomy (LAVeg) of the Federal University of Rio Grande do Sul(UFRGS), and the Coordenação de Amparo ao Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Ministério da Educação, for the grant awarded to the first author, the

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, for the research grants awarded to the second author. We are also grateful to Zoobotanical Foundation and the Marie Selby Botanical Garden for providing most of the material used in this research.

References

- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 122-127.
- Baker JG. 1889. *Handbook of the Bromeliaceae*. London: George Bell and Sons.
- Barfuss MHJ, Samuel R, Till W, Stuessy TF. 2005. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on dna sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany* 92: 337-351.
- Benzing DH. 1980. *The biology of the bromeliads*. California: Eureka, Mad River Press.
- Billings FH. 1904. A study of *Tillandsia usneoides*. *Botanical Gazette* 38:99–121.
- Birge WI. 1911. The anatomy and some biological aspects of the ball moss, *Tillandsia recurvata* L. *Bulletin of the University of Texas* 194 (20): 1–24.
- Böhme S. 1988. Bromelien studien. III. Vergleichende Untersuchungen zu Bau, Lage und systematischer Verwertbarkeit der Septalnektarien von Bromelien. *Tropische und subtropische Pflanzenwelt* 62: 125–274.
- Bouman F. 1984. *The ovule*. In B. M. Johri Ed. Embryology of Angiosperms. Berlin: Springer-Verlag. 123-157.
- Brown GK, Gilmartin AJ. 1984. Stigma Structure and Variation in Bromeliaceae: Neglected Taxonomic characters. *Brittonia* 36: 364-374.
- Brown GK, Gilmartin AJ. 1989. Stigma types in Bromeliaceae: A systematic survey. *Systematic Botany* 14: 110-132.
- Brown GK, Terry RG. 1992. Petal appendages in Bromeliaceae. *American Journal of Botany* 79:1051–1071.

- Burd M, Ashman T-L, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Knight TM, Mazer SJ, Mitchell RJ, Steets JA, Vamosi JC. 2009. Ovule number per flower in a world of unpredictable pollination. *American Journal of Botany* 96(6): 1159–1167.
- Coffani-Nunes JV, Versieux LM, Wanderley MGL, Pirani JR. 2010. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Bromeliaceae - Tillandsioideae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 28 (1): 35-54.
- Conceição S, De Toni KLG, Costa CG. 2007. Particularidades do nucelo de *Dyckia pseudococcinea* L.B. Smith (Bromeliaceae). *Revista Brasileira Biosciencias* 5:846–848.
- Costa AF, Rodrigues PJFP, Wanderley MGL. 2009. Morphometric analysis and taxonomic revision of the *Vriesea paraibica* complex (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 159, 163–181.
- Crayn MD; Winter K, Smith AC. 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the neotropical family Bromeliaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101: 3703-3708.
- De Toni KLG, Mariath JEA. 2010. Ovule ontogeny of *Relbunium* species in the evolutionary context of Rubiaceae. *Australian Journal of Botany* 58:70–79
- Doyle JA, Endress PK. 2000. Morphological Phylogenetic Analysis of Basal Angiosperms: Comparison and Combination with Molecular Data. *International Journal of Plant Science* 161(6):121–153.
- Endress PK, Doyle JA. 2009. Reconstructing the ancestral angiosperm flower and its initial specializations. *American Journal of Botany* 96(1): 22–66.
- Endress PK, Igersheim A. 2000. Gynoecium Structure and Evolution in Basal Angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* 161(6):211–S223.

- Endress PK. 2005. Links between embryology and floral evolutionary morphology. *Current Science* 89: 749–754.
- Endress PK. 2011a. Evolutionary diversification of the flowers in angiosperms. *American Journal of Botany* 98(3): 370–396.
- Endress PK. 2011b. Angiosperm ovules: diversity, development, evolution. *Annals of Botany* 107:1465–1489.
- Escobedo-Sarti J; Ramirez I; Leopardi C, Carnevali G, Magellan S, Duno R, Mondragón D. 2013. A phylogeny of Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) derived from an evaluation of nine supertree methods. *Journal of Systematics and Evolution* 51 (6):744-757.
- Espejo-Serna A. 2002. *Viridantha*, un género nuevo de Bromeliaceae (Tillandsioideae) endémico de Mexico. *Acta Botánica Mexicana* 60: 25-35.
- Fagundes NF, Mariath JEA. 2014. Ovule ontogeny in *Billbergia nutans* in the evolutionary context of Bromeliaceae (Poales). *Plant Systematics and Evolution* 300: 1323-1336.
- Gabriel BL 1982. *Biological electron microscopy*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Gerrits PO; Smid L. 1983. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132: 81-85.
- Gersterberger P, Leins P. 1978. Rasterelektronmikroskopische untersuchungen an blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae). Anwendung einer neuen präparations methode. *Berichete der Deutschen Botanischen Gasellschaft* 91: 381-387.
- Gilmartin AJ. 1983. Evolution of Mesic and Xeric Habits in *Tillandsia* and *Vriesea* (Bromeliaceae). *Systematic Botany* 8 (3): 233-242.

- Gilmartin AJ; Brown GK. 1987. Bromeliales, related Monocots, and resolution of relationships among Bromeliaceae subfamilies. *Systematic Botany* 12(4):493–500.
- Gilmartin AJ; Brown GK; Varadarajan GS, Neighbors, N. 1989. Status of *Glomeropitcairnia* within evolutionary history of Bromeliaceae. *Systematic Botany* 14: 339–348.
- Givnish TJ, Evans TM, Zjhra ML, Patterson TB, Berry PE, Sytsma KJ. 2000. Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: Evidence from *ndhF* sequences and morphology. *Evolution* 54: 1915–1937.
- Givnish TJ, Millam KC, Evans TM, Hall JC, Pires JC, Berry PE, Sytsma KJ. 2004. Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunction in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequence data. *International Journal of Plant Science* 165: 35–54.
- Givnish TJ, Millam KC, Berry PE, Sytsma KJ. 2007. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso* 23: 3-26.
- Givnish TJ, Barfuss MHJ, Ee BV, Riina R, Schulte K, Horres R, Gonsiska PA, Jabaily RS, Crayn DM, Smith AC, Winter K, Brown GK, Evans TM, Holst BK, Luther H, Till W, Zizka G, Berry PE, Sytsma KJ. 2011. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany* 98: 872–895.
- Givnish TJ, Barfuss MHJ, Ee BV, Riina R, Schulte K, Horres R, Gonsiska PA, Jabaily RS, Crayn DM, Smith AC, Winter K, Brown JK, Evans TM, Holst BK, Luther H, Till W, Zizka G, Berry PE, Sytsma KJ. 2014. Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 71: 55–78.

- Gomes-da-Silva J, Costa AF. 2013. An Updated Overview of Taxonomy and Phylogenetic History of Tillandsioideae Genera (Bromeliaceae: Poales). *Global Journal of Botanical Science* 1: 1-8.
- Gomes-da-Silva J, Vargens FAC, Arruda RCO, Costa AF. 2012. A Morphological Cladistic Analysis of the *Vriesea corcovadensis* Group (Bromeliaceae: Tillandsioideae), with Anatomical Descriptions: New Evidence of the Non-Monophyly of the Genus. *Systematic Botany* 37(3):641–654.
- Grant JR. 1993a. New combinations in *Mezobromelia* and *Racinaea* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Phytologia* 74 (6): 428-430.
- Grant JR. 1993b. True tillandsias misplaced in *Vriesea* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Phytologia* 75: 170- 175.
- Grant JR. 1994a. The reduction of *Platyaechmea* under *Hoplophytum*, and a new name in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Phytologia* 77 (2): 99-101.
- Grant JR. 1994b. Three new species of *Racinaea* (Tillandsioideae: Bromeliaceae) from Ecuador and Peru. *Phytologia* 76 (4): 284-289.
- Grant JR. 1995a. Bromelienstudien. Addendum to “The resurrection of *Alcantarea* and *Werauhia*, a new genus. *Phytologia*. 78 (2): 119-123.
- Grant JR. 1995b. New combinations and new taxa in the Bromeliaceae. *Phytologia* 79: 254-256.
- Gross E. 1988. Bromelienstudien IV. Zur Morphologie der Bromeliaceen-Samen unter Berücksichtigung systematisch-taxonomischer Aspekte. *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* 64: 415–625.
- Halbritter, H. 1992. Morphologie und systematische Bedeutung des Pollens der Bromeliaceae. *Grana* 31: 197–212.

- Herr JM. 1984. *Embryology and taxonomy*. In: Johri BM ed. *Embryology of angiosperms*. Berlin: Springer-Verlag. 647–696.
- Horres R, Zizka G, Kahl G, Weising K. 2000. Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: Evidence from trnL (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. *Plant Biology* 2: 306–315.
- Igersheim A, Buzgo M, Endress PK. 2001. Gynoecium diversity and systematics in basal monocots. *Botanical Journal of the Linnean Society* 136: 1–65.
- Igersheim A. and Endress PK. 1998 Gynoecium diversity and systematics of the paleoherbs. *Botanical Journal of the Linnean Society* 127:289–370
- Johri BM, Ambegaokar KB, Srivastava PS. 1992. *Comparative embryology of angiosperms*. Berlin: Springer-Verlag.
- Kessler M. 2001. Patterns of diversity and range size of selected plant groups along an elevational transect in the Bolivian Andes. *Biodiversity and Conservation* 10: 1897–1921.
- Krömer T, Kessler M, Gradstein SR, Aceby A. 2005. Diversity patterns of vascular epiphytes along an elevational gradient in the Andes. *Journal of Biogeography* 32: 1799–1809.
- Lakshmanan KK. 1967. Embryological studies in the Bromeliaceae. I. *Lindmania penduliflora* (C. H. Wright) Stapf. *The Proceedings of the Indiana Academy of Science* 65:49–55
- Linares-Palomino R, Cardona V, Hennig EI, Hensen I, Hoffmann D, Lenzion J, Soto D, Herzog SK, Kessler M. 2009. Non-woody life-form contribution to vascular plant species richness in a tropical American forest. *Plant Ecology* 201: 87–99.
- Linares-Palomino R, Kessler M. 2009. The role of dispersal ability, climate and spatial separation in shaping biogeographical patterns in seasonally dry Andean forests of Bolivia. *Journal of Biogeography* 36: 280–290.

- Linder HP, Rudall PJ. 1993 The meggametophyte of *Anarthria* (Anarthriaceae) and its implication for the Phylogeny of the Poales. *American Journal of Botany* 80: 1455-1464.
- Linder HP, Rudall PJ. 2005. Evolutionary history of Poales. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematic* s36:107–124.
- Luther HE, Sieff E. 1997. De rebus bromeliacearum II. *Selbyana* 18 (1):103-148
- Luther HE. 2014. *An alphabetical list of Bromeliad binomials*. 14th ed. Florida: Marie Selby Botanical Gardens and Bromeliad Society International.
- Luther, H. E. 2000. *An alphabetical list of bromeliad binomials*. 7th ed. Florida: The Bromeliad Society International.
- Magalhães RI, Mariath JEA. 2012. Seed morphoanatomy and its systematic relevance to Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution* 298:1881–1895.
- Maheshwari P. 1950. *An introduction to the embryology of angiosperms*. New York:McGraw-Hill.
- McDowell EM, Trump BR. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 100: 405-414.
- Mendes SP. 2008. Endospermogênese e embriogeênese de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Smith (Bromeliaceae). Dissertation. Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro
- Mendes SP, Costa CG, De Toni KLG. 2012. Androecium development in the bromeliad *Dyckia pseudococcinea* L.B.Sm. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae), an endangered species endemic to Brazil: implications for conservation. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 207 (8): 622–627.
- Mez C. 1934-35. *Bromeliaceae*. In: Engler A. Das pflanzenreich. Stuttgart.

- Nogueira FM, Fagundes NF, Kuhn SA, Fregonezi JN, Mariath JEA. 2015. Ovary and ovule anatomy in the Nidularioid complex and its taxonomic utility (Bromelioideae-Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 177 (1): 66-77.
- O'Brien TP, McCully ME. 1981. *The study of plant structure - principles and selected methods*. Melbourne: Termarcaphi Pty.
- Palací CA, Brown GK, Tuthill DE. 2004. The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Systematic Botany* 29:518–527.
- Palser BF. 1975. The Bases of Angiosperm Phylogeny: Embryology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62 (3):621-646.
- Papini A, Mosti S, Milocani E, Tani G, Di Falco P, Brighigna L. 2011. Megasporogenesis and programmed cell death in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Protoplasma* 248: 651–662.
- Płachno BJ, Świątek P. 2009. Functional anatomy of the ovule in *Genlisea* with remarks on ovule evolution in Lentibulariaceae. *Protoplasma* 236:39–48
- Rao AN, Wee YC. 1979. Embryology of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. *New Phytologist* 83:485–497.
- Rauh W. 1991. *Guzmania undulato-bracteata*; a new combination. *Journal of the Bromeliad Society* 41 (1): 18-20.
- Rudall PJ. 1997. The Nucellus and Chalaza in Monocotyledons: Structure and Systematics. *The Botanical Review* 63(2):140-18.
- Sajo MG, Prychid CJ, Rudall PJ. 2004. Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. *Kew Bulletin* 59: 261-267.
- Sartori JS. 2008. Desenvolvimento floral em *Vriesea carinata* Wawra (Tillandsioideae–Bromeliaceae). PhD Thesis. Federal University of Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.

- Sass C, Specht CD. 2010. Phylogenetic estimation of the core bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 559–571.
- Schulte K, Barfuss MHJ, Zizka G. 2009. Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Molecular phylogenetics and evolution* 51: 327–339.
- Smith LB, Down RJ. 1977. *Tillandsioideae (Bromeliaceae)*. In *Flora Neotropica*. New York: Hafner Press.
- Spat C. 2012. Embriologia de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm. (Tillandsioideae-Bromeliaceae). Dissertation. Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul.
- Spencer MA, Smith LB. 1993. *Racinaea*, a new genus of Bromeliaceae (Tillandsioideae). *Phytologia* 74(2): 151-160.
- Terry RG, G. K. Brown. 1996. A study of evolutionary relationships in Bromeliaceae based on comparison of DNA sequences from the chloroplast gene *ndhF*. *Journal of Bromeliad Society* 46: 107-112.
- Terry RG, G. K. Brown, Olmstead RG. 1997a. Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. *American Journal of Botany* 84: 664–670.
- Terry RG, G. K. Brown, Olmstead RG. 1997b. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) using *ndhF* Sequences. *Systematic Botany* 22 (2): 333–345.
- Till W. 2000. Tillandsioidea. In Benzing D. H. *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Tobe H. 1989. The embryology of angiosperms: Its broad application to the systematic and evolutionary study. *Botanical Magazine Tokyo* 102:351–367.

- Utlely JF, Luther HE. 1991. Studies in Middle American Bromeliaceae II. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 78: 270.
- Utlely JF. 1978. III. A new combination in *Guzmania* (Bromeliaceae). *Phytologia* 40 (1): 55-57.
- Versieux LM, Barbará T, Wanderley MG; Calvente A, Fay MF, Lexer C. 2012. Molecular phylogenetics of the Brazilian giant bromeliads (*Alcantarea*, Bromeliaceae): implications for morphological evolution and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 64: 177-189.
- Weber W, Smith LB. 1983. A new combination in *Mezobromelia*. *Journal of Bromeliad Society* 33 (3): 121-122.
- Wee YC, Rao AN. 1974. Gametophytes and seed development in pineapple. *Current Science* 43:171–173.

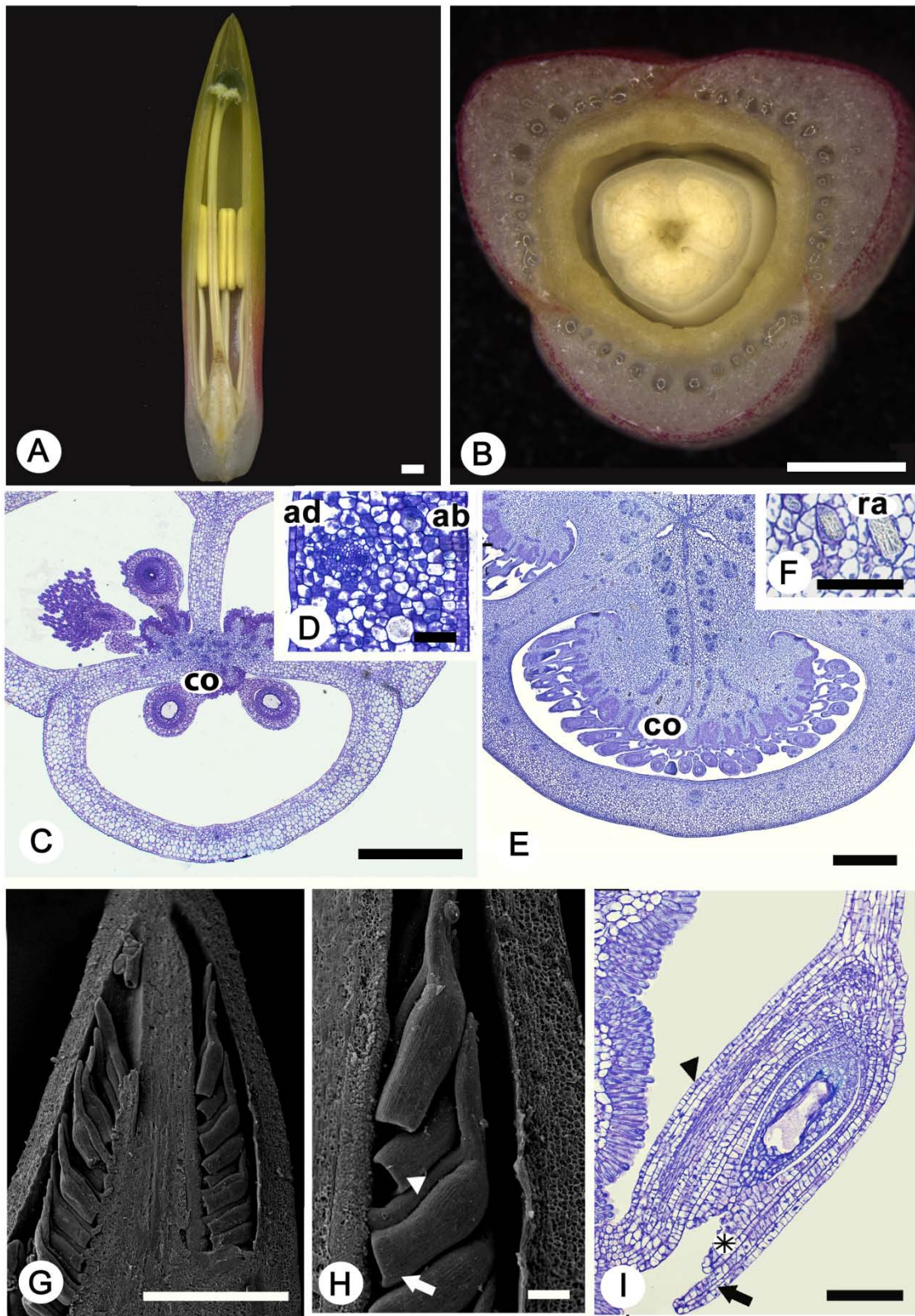


Fig. 1: Mature ovary and ovule of Tillandsioideae species. (A, B) Flower of *Vriesea incurvata* in longitudinal section (A) and in transversal section (B); (C, D) *Catopsis morreniana*, with detail in (D) of ovary wall. (E, F) *Werauhia sanguinolenta*, with detail in (F) of mesophyll with idioblasts containing raphides. (G-I) Longitudinal section of ovary showing ovule arrangement, outer integument, inner integument and funiculus. (G, H) *Vriesea rodigasiana*; (I) *Vriesea friburguensis* ovule detail. co: columns of ovules; ra: raphides; ad: adaxial surface of epidermis; ab: abaxial surface of epidermis; arrowhead: funiculus; asterisk: inner integument. Brightfield microscopy (A-F, I). Scanning electron microscopy (G, H). Bars: (A, B) 200 mm; (C) 0,5mm; (E, G) 1mm; (H, I) 100 μ m; (D) 50 μ m; (F) 20 μ m.

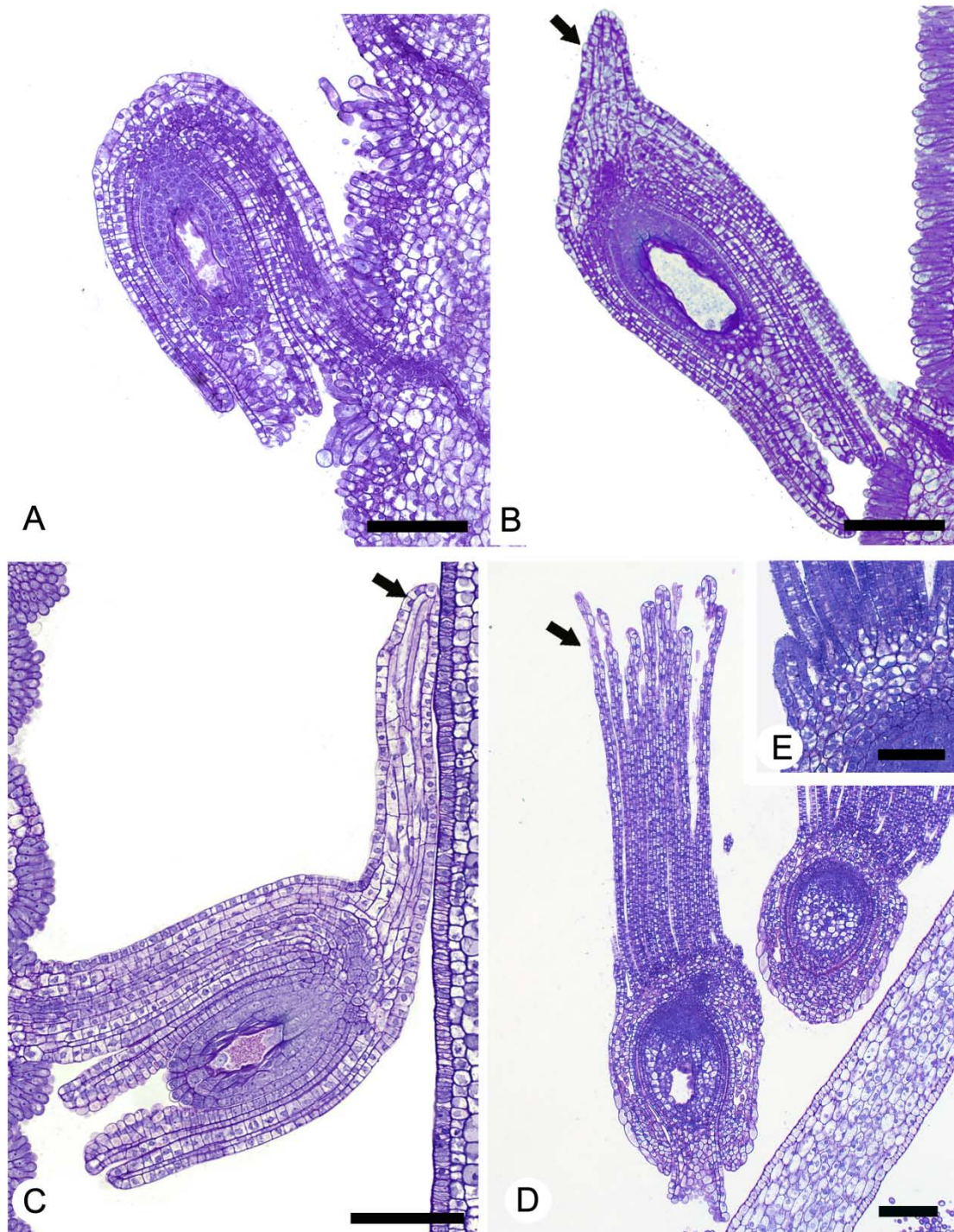


Fig. 2: Mature ovule in longitudinal section of Tillandsioideae species. (A) *Racinaea spiculosa*; (B) *Vriesea incurvata*; (C) *Vriesea platynema*; (D, E) *Catopsis morreniana*, with detail in (E) of the multiple appendages. Note the different lengths of chalazal appendages. Arrow: chalazal appendages. Brightfield microscopy (A- E). Bars: (A, C, D) 100 µm; (B,E) 50 µm.

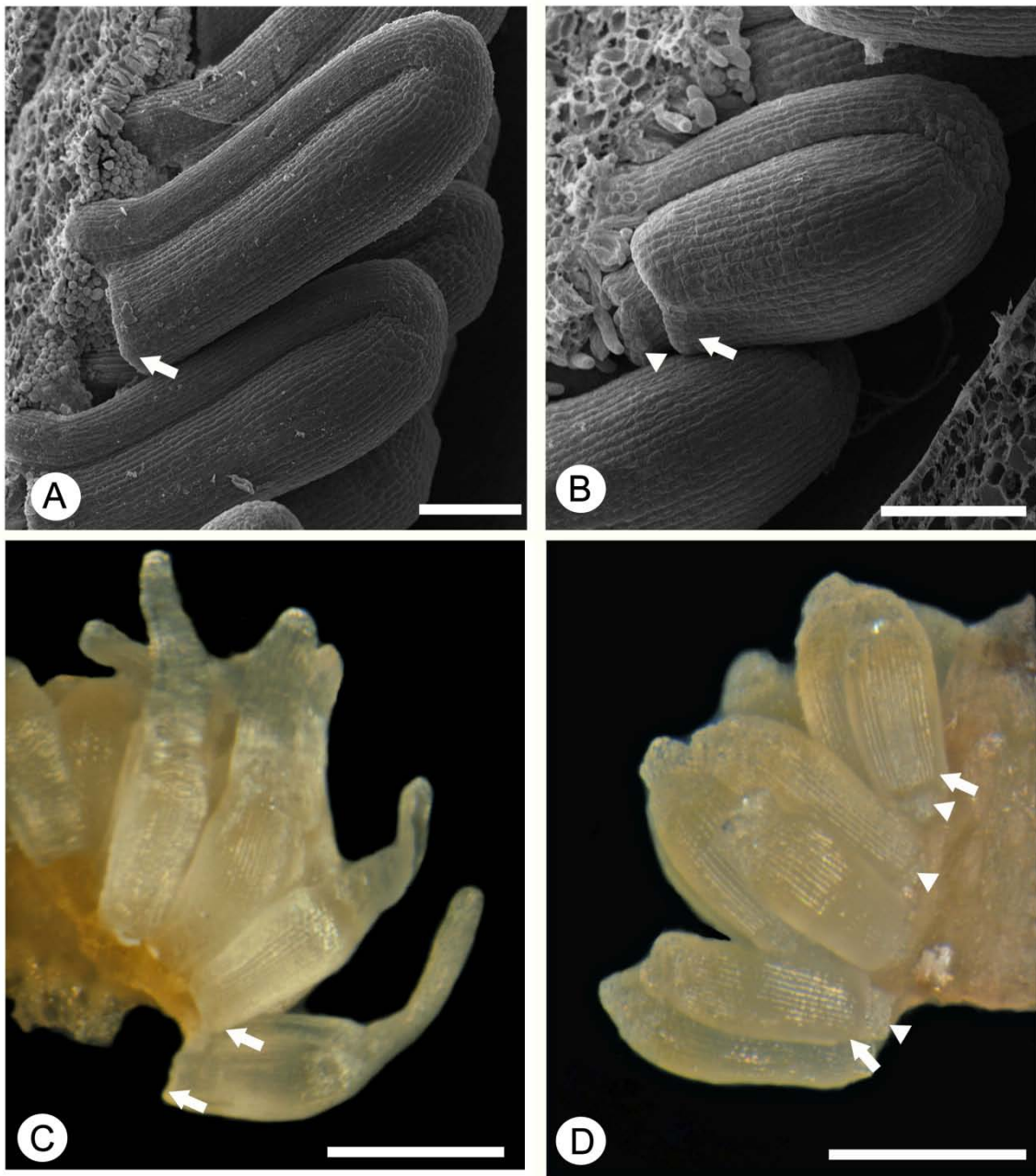


Fig. 3: Mature ovule of Tillandsioideae species. Note the outer integument and the inner integument in (A) *Vriesea unilateralis*, (B) *Racinaea spiculosa*, (C) *Vriesea friburguensis* and (D) *Tillandsia geminiflora*. Arrow: outer integument; arrowhead: inner integument. Scanning electron microscopy (A, B). Brightfield microscopy (C, D). Bars: (A, B) 100 μ m; (C, D) 1mm.

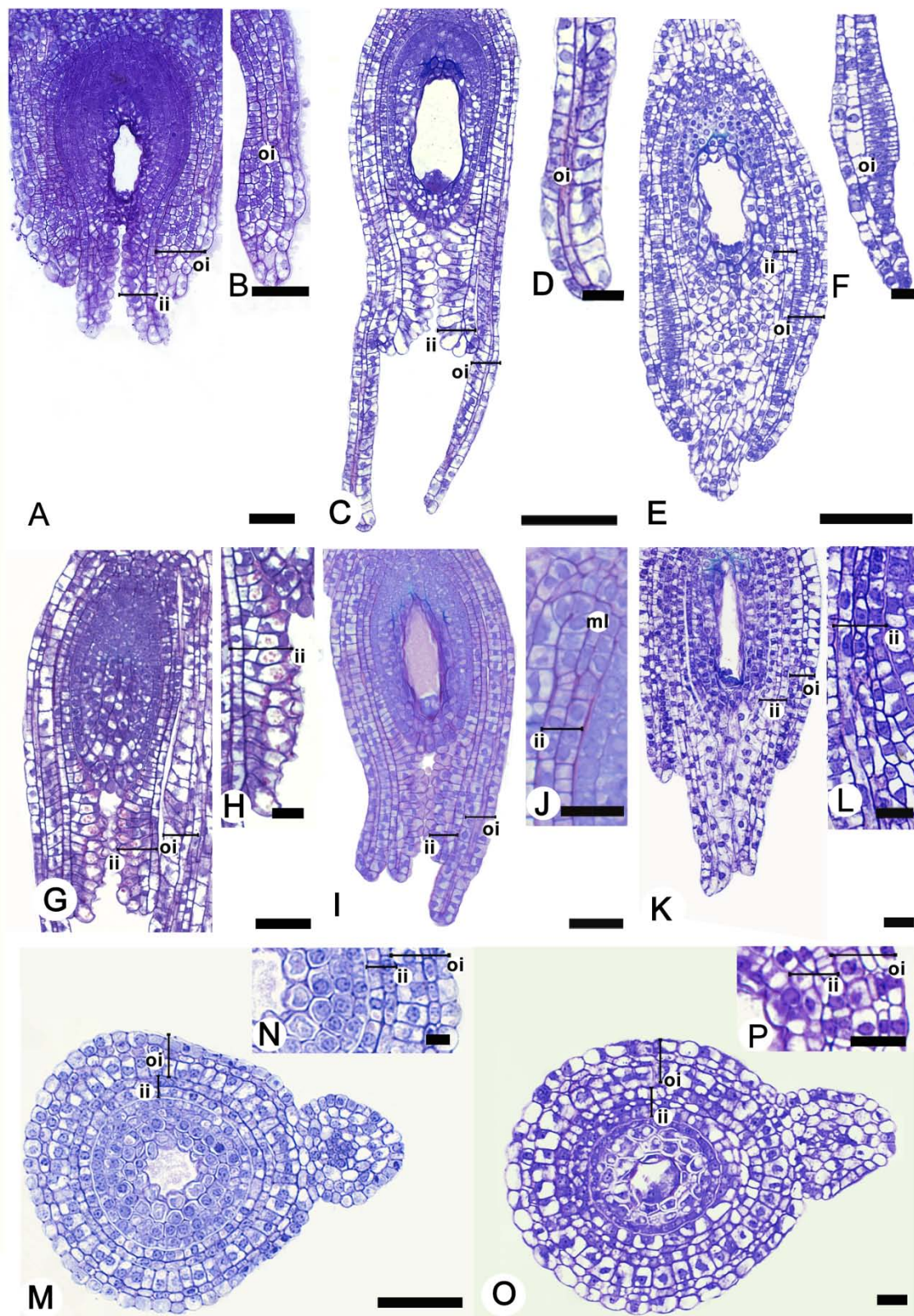


Fig. 4: Mature ovules of Tillandsioideae species. (A-L) Longitudinal sections in (A, B) *Catopsis berteroniana*, (C, D) *Vriesea reitzii*, (E, F) *Tillandsia dura*, (G, H) *Vriesea unilateralis*, (I, J) *Vriesea corcovadensis*, (K) *Tillandsia duratii* and (L) *Tillandsia winkleri*. Details of the outer integument (B, D, F). Details of the inner integument (H, J, L) and its middle layer in (J). (M-P) Transversal sections in (M, N) *Racinaea spiculosa* and (O, P) *Tillandsia aeranthos*. ii: inner integument; ml: middle layer; oi: outer integument. Brightfield microscopy (A -P). Bars: (A, C, E, G, I, K, M, O) 50 μ m; (D, H, J, L, N, P) 20 μ m; (B, F) 10 μ m.

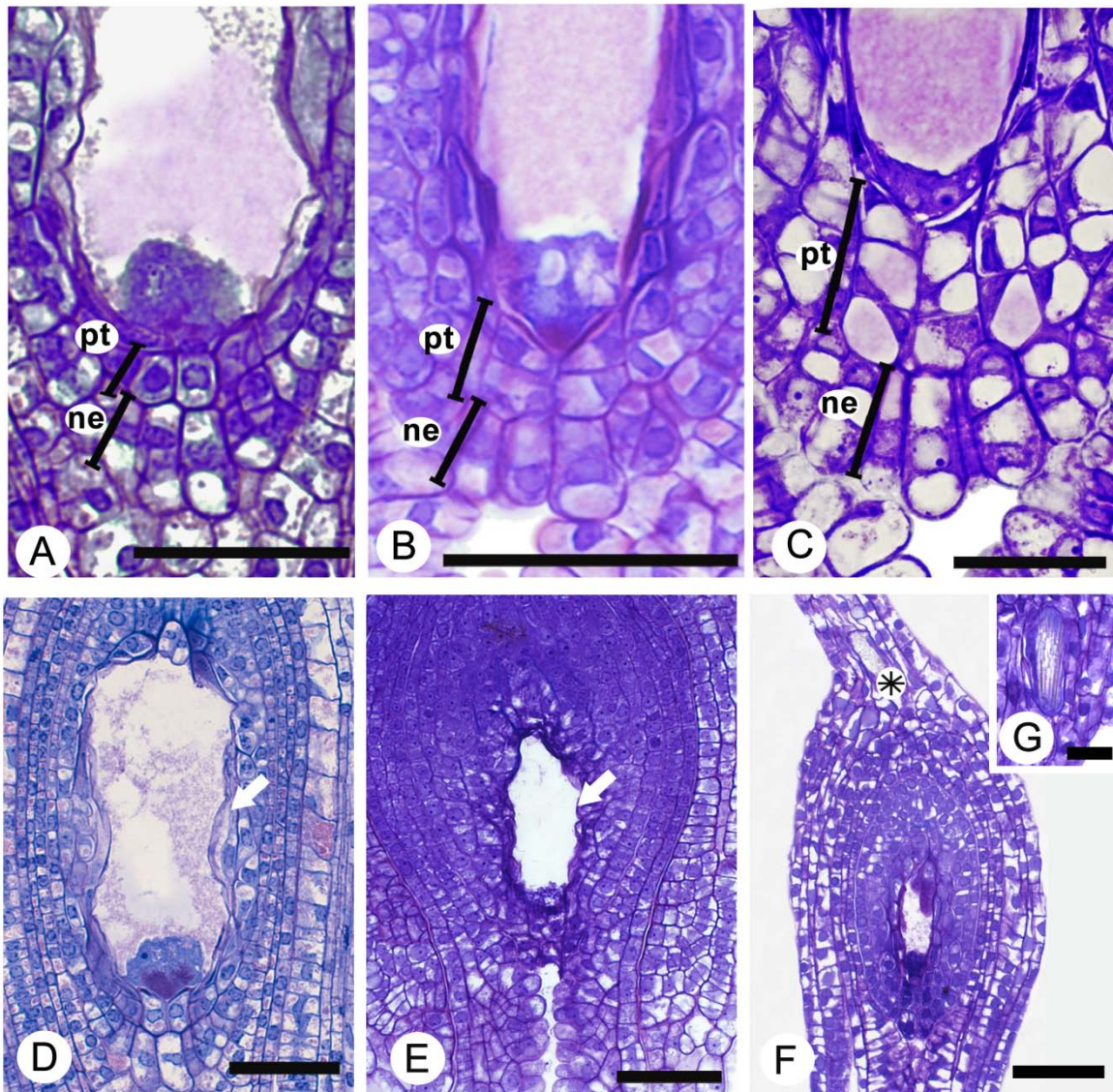


Fig. 5: Mature ovule in longitudinal section of Tillandsioideae species. (A-C) Detail of nucellar epidermis and parietal tissue in (A) *Tillandsia mallemonitii*, (B) *Vriesea corcovadensis*, (C) *Vriesea gigantea*. (D-E) Detail of female gametophyte in (D) *Tillandsia mallemonitii* and (E) *Catopsis morreniana*. (F-G) *Tillandsia streptocarpa* ovule with raphides at the chalazal portion (F) and its detail (G). ne: nucellar epidermis; pt: parietal tissue; arrow: female gametophyte; asterisk: raphids . Brightfield microscopy (A-G). Bars: (A- F) 50 μm ; (G) 20 μm .

Table 1: Genus and species of Tillandsioideae studied and registration numbers.

Taxon	Country/Location	Registration number
<i>Alcantarea</i>		
<i>A. simplicisticha</i> Leme & A.P. Fontana	Brazil	MSBG 2009-0639
<i>Catopsis</i>		
<i>C. berteroniana</i> (Schult. f.) Mez	French Guiana	MSBG 2008-0504
<i>C. morreniana</i> Mez	Guatemala/ Petén	MSBG 1981-0230
	Honduras	MSBG 1975-0037-037
<i>C. nutans</i> L.B. Sm.	Honduras	MSBG 1976-0020-005
	Costa Rica/ São José	MSBG 1991-0312
<i>Guzmania</i>		
<i>G. alcantareoides</i> H. Luther	Ecuador/ Zamora-Chinchipe	MSBG 1990-0858
<i>G. cerrohoyaensis</i> H. Luther	Panama/ Veraguas	MSBG 2002-0060
<i>G. ferruginea</i> H. Luther	Ecuador/ Zamora Chinchipe	MSBG 2007-0212
<i>G. foetida</i> Rauh	Ecuador/ Pastaza	MSBG 1986-0330
<i>G. lingulata</i> (L.) Mez	Panama	MSBG 1999-0141
<i>G. macropoda</i> L.B. Sm.	Panama	MSBG 1995-0301
<i>G. monostachia</i> (L.) Rusby ex Mez	Dominican Republic	MSBG 1998-0075
<i>G. musaica</i> (Linden & André) Mez	Colombia/ Choco	MSBG 2002-0069
<i>G. herrerae</i> H. Luther & W.J. Kress	Costa Rica/ Alejuela	MSBG 1992-0041
<i>G. remyia</i> L.B. Smith	Ecuador/ Pichincha	MSBG 1990-0857
<i>G. sanguinea</i> (André) André ex Mez	Ecuador/ Manabí	MSBG 1995-0321
<i>G. sprucei</i> (André) L.B. Sm.	Panama	MSBG 1988-0141
<i>G. subcorymbosa</i> L.B. Sm.	Costa Rica/ Alajuela	MSBG 1990-0698
<i>G. variegata</i> L.B. Sm.	Ecuador/ El Oro	MSBG 1999-0178
<i>G. zahnii</i> (Hooker f.) Mez	Costa Rica/ Puntarenas	MSBG 1980-0675
<i>G. wittmackii</i> (André) André ex Mez	Ecuador/ El Oro	MSBG 1981-2398
	Ecuador/ Pichincha	MSBG 1980-0527
	Ecuador/ Napo	MSBG 1995-0317

Taxon	Country/Location	Register number
<i>Racinaea</i>		
<i>R. spiculosa</i> (Griseb.) M.A. Spencer & L.B. Sm.	Brazil/ São Paulo	ICN 187143
<i>Tillandsia subg. Anoplophytum</i>		
<i>T. aeranthos</i> (Loiseleur) L.B. Sm.	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 179139
	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 179140
<i>T. geminiflora</i> Brongniart	Brazil/ Rio Grande do Sul	BROM 00395
	Brazil/ Rio Grande do Sul	BROM 00176
<i>T. neglecta</i> E. Pereira	Brazil/ Rio de Janeiro	MSBG 1988-0264
<i>T. polzii</i> Ehlers	Argentina	MSBG 1985-1886
<i>T. sprengeliana</i> Klotzsch ex Mez	Brazil/ Rio de Janeiro	MSBG 19930406
<i>T. stricta</i> Solander	Brazil/ Rio Grande do Sul	MSBG 1984-0466
	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 177676
<i>T. tenuifolia</i> L.	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 178394
	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 178393
<i>T. winkleri</i> Strehl	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 179142
<i>Tillandsia subg. Phytarrhiza</i>		
<i>T. malleontii</i> Glaziou ex Mez	Brazil/ Rio grande do Sul	BROM 00768
<i>T. cf. cacticola</i> L.B. Sm.	Peru/ Amazona	MSBG 1992-0107
<i>T. crocata</i> (E. Morren) Baker	Brazil/ Rio grande do Sul	ICN 179141
<i>T. cyanea</i> Linden ex K. Koch	Ecuador / Chimborazo	MSBG 1983-0070
<i>T. dodsonii</i> L.B. Sm.	Ecuador/ Azuay	MSBG 1991-0035
<i>T. duratii</i> Visiani	Bolivia/ La Paz	MSBG 1983-0012
	Brazil/ Rio grande do Sul	BROM 00368
	Brazil/ Rio grande do Sul	BROM 00043
<i>T. dyeriana</i> André	Ecuador/ Esmeralda	MSBG 1982-0215
<i>T. lindenii</i> Regel	Peru	MSBG 1990-0415
<i>T. pretiosa</i> Mez	Ecuador/ Ibabura	MSBG 1994-0436
<i>T. streptocarpa</i> Baker	Brazil	MSBG 1977-2879
	Brazil	MSBG 1976-0147-003

Taxon	Country/Location	Register number
<i>Tillandsia subg. Allardtia</i>		
<i>T. dura</i> Baker	Brazil/ São Paulo	ICN 178395
	Brazil/ Rio de Janeiro	MSBG 1986-0447
<i>T. latifolia</i> Meyen	Peru	MSBG 1992-0338
<i>T. lorentziana</i> Griseb.	Brazil/ Minas Gerais	MSBG 1992-0448
<i>T. vernicosa</i> Baker	Bolivia/ La Paz	MSBG 1981-0077
<i>Tillandsia subg. Tillandsia</i>		
<i>T. baileyi</i> Rose ex Small	Mexico / Tamaulepas	MSBG 1988-0052
<i>T. bulbosa</i> Hooker	Belize	MSBG 1985-0324
<i>T. festucoides</i> Brongniart ex Mez	Belize/ Caio	MSBG 2015-0042
<i>T. funckiana</i> Baker	Venezuela/ Barinas	MSBG 1985-1874
<i>T. hammeri</i> Rauh & Ehlers	Mexico/ Oaxaca	MSBG 1992-0275
<i>T. ionantha</i> Planchon	Mexico/ Oaxaca	MSBG 2006-0029
<i>T. mima</i> L.B. Sm.	Ecuador/ Azuay	MSBG 1989-0030
<i>T. polystachya</i> (L.) L.	Mexico/ Vera Cruz	MSBG 1985-0708
<i>T. schiedeana</i> Steudel	Mexico/ Chiapas	MSBG 1980-1601
	Belize/ Toledo	MSBG 1997-0214
<i>T. simulata</i> Small	United States/Florida	MSBG 1978-2254
	United States/Florida	MSBG 2007-0178
	Costa Rica/ São José	MSBG 1985-1214
<i>Tillandsia subg. Diaphorantema</i>		
<i>T. usneoides</i> (L.) L.	Costa Rica/ Cartago	MSBG 1987-0011
<i>Vriesea sect. Vriesea</i>		
<i>V. ensiformis</i> (Vellozo) Beer	Brazil/ Rio de Janeiro	ICN 177679
	Brazil/ Paraná	ICN 177678
<i>V. guttata</i> Linden & André	Brazil/ Rio de Janeiro	ICN 192183
<i>V. rodigasiana</i> E. Morren	Brazil/ São Paulo	ICN 177673
	Brazil/ São Paulo	ICN 177672
<i>V. friburgensis</i> Mez	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 192182
	Brazil/ Rio Grande do Sul	BROM 00015
<i>V. reitzii</i> Leme & A. Costa	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 190912
<i>V. simplex</i> (Vellozo) Beer	Brazil/ São Paulo	ICN 190909

Taxon	Country/Location	Register number
	Brazil/ São Paulo	ICN 190910
<i>V. psittacina</i> (Hooker) Lindley	Paraguay	MSBG 2008-0362
<i>V. flava</i> A.F. Costa, H. Luther & Wand.	Brazil/ Paraná	ICN 178396
<i>V. incurvata</i> Gaudich.	Brazil/ Paraná	ICN 190911
	Brazil	ICN 192184
	Brazil/ Paraná	ICN 177671
	Brazil/ Paraná	ICN 177677
<i>V. vagans</i> (L.B. Sm.) L.B. Sm.	Brazil/ Paraná	ICN 172186
<i>V. flammea</i> L.B. Sm.	Brazil/ São Paulo	ICN 192180
<i>V. corcovadensis</i> (Britten) Mez	Brazil/ Rio Grande do Sul	BROM 00620
<i>V. barclayana</i> (Baker) L.B. Sm.	Ecuador	MSBG 1996-0443
<i>V. weberi</i> E. Pereira & I.A. Penna	Brazil/ Espírito Santo	MSBG 2000-0102
<i>V. barilletii</i> E. Morren	Brazil	MSBG 1990-0818
<i>V. bleherae</i>	Brazil	MSBG 1086-0307
<i>V. splendens</i> (Brongniart) Lemaire	Venezuela	MSBG 1994-0100
<i>V. espinosae</i> (L.B. Sm.) Gilmartin	Ecuador/ Manambí	MSBG 1980-0337
<i>V. chrysostachys</i> E. Morren	Peru	MSBG 1993-0018
<i>V. laxa</i> Mez	Venezuela/ Aragua	MSBG 1993-0412
<i>Vriesea</i> sect. <i>Xiphion</i>		
<i>V. drepanocarpa</i> (Baker) Mez	Brazil/ Santa Catarina	ICN 178392
<i>V. gigantea</i> Gaudich.	Brazil/ Santa Catarina	ICN 187142
<i>V. platynema</i> Gaudich.	Brazil/ Rio Grande do Sul	ICN 190913
	Brazil/ Rio Grande do Sul	BROM 00751
<i>V. minuta</i> Leme	Brazil/ Bahia	MSBG 1997-0035
<i>V. rubra</i> (Ruiz & Pavón) Beer	Colombia	MSBG 1980-1223
<i>V. unilateralis</i> (Baker) Mez	Brazil/ Paraná	ICN 192185
<i>Werauhia</i>		
<i>W. sanguinolenta</i> (Linden ex Cogniaux & Marchal) J.R. Grant	Ecuador/ Morona-Santiago	MSBG 1996-0403
<i>W. gladioliflora</i> (H. Wendland) J.R. Grant	Costa Rica/ São José	MSBG 2008-0204

Taxon	Country/Location	Register number
	Costa Rica	MSBG 1985-0274
<i>W. marnier-lapostollei</i> (L.B. Sm.) J.R. Grant	Costa Rica/ São José	MSBG 2003-0382

Table 2: Character state matrix of the anatomical features related to the ovule of Tillandsioideae.

Species/ Character*	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
<i>Alcantarea</i>										
<i>A. simplicisticha</i> Leme & A.P. Fontana	10	Single	Very long	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>Catopsis</i>										
<i>C. berteroniana</i> (Schult. f.) Mez	2	Multiple	Very long	Absent	Four to five	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>C. nutans</i> L.B. Sm.	4	Multiple	Very long	Absent	Four to five	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>C. morreniana</i> Mez	2	Multiple	Very long	Absent	Four to five	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>Guzmania</i>										
<i>G. sprucei</i> (André) L.B. Sm.	12	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. alcantareoides</i> H. Luther	12	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. cerrohoyaensis</i> H. Luther	12	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. sanguinea</i> (André) André ex Mez	10	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. foetida</i> Rauh	10	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. musaica</i> (Linden & André) Mez	12	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. herrerae</i> H. Luther & W.J. Kress	10	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. wittmackii</i> (André) André ex Mez	10	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. monostachia</i> (L.) Rusby ex Mez	10	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. lingulata</i> (L.) Mez	10	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. macropoda</i> L.B. Sm.	6	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. subcorymbosa</i> L.B. Sm.	8	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. variegata</i> L.B. Sm.	10	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. zahnii</i> (Hooker f.) Mez	--	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. ferruginea</i> H. Luther	8	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>G. remya</i> L.B. Smith	10	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>Racinaea</i>										
<i>R. spiculosa</i> (Griseb.) M.A.Spencer & L.B.Sm.	4	Single	Absent	Absent	Three	Two	Present	Absent	Elongated	Two to three
<i>Tillandsia</i> Subg. <i>Anoplophytum</i>										

<i>T. geminiflora</i> Brongniart	6	Single	Short	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. stricta</i> Solander	6	Single	Short	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. tenuifolia</i> L.	6	Single	Short	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. aeranthos</i> (Loiseleur) L.B. Sm.	6	Single	Short	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. winkleri</i> Strehl	--	Single	Short	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elliptic	One
<i>T. sprengeliana</i> Klotzsch ex Mez	6	Single	Short	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. neglecta</i> E. Pereira	4	Single	Short	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. polzii</i> Ehlers	6	Single	Short	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>Tillandsia</i> Subg. <i>Phytarrhiza</i>										
<i>T. malleontii</i> Glaziou ex Mez	6	Single	Long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elliptic	One
<i>T. duratii</i> Visiani	6	Single	Long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. crocata</i> (E. Morren) Baker	6	Single	Long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	One
<i>T. cf. cacticola</i> L.B. Sm.	6	Single	Very long	Present	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. cyanea</i> Linden ex K. Koch	8	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. streptocarpa</i> Baker	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Present	Elongated	Two to three
<i>T. lindenii</i> Regel	8	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. dodsonii</i> L.B. Sm.	4	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. pretiosa</i> Mez	8	Single	Absent	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. dyeriana</i> André	8	Single	Vestigial	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elliptic	Two to three
<i>Tillandsia</i> Subg. <i>Allardtia</i>										
<i>T. dura</i> Baker	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elliptic	Two to three
<i>T. latifolia</i> Meyen	6	Single	Vestigial	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elliptic	Two to three
<i>T. lorentziana</i> Griseb.	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. verrucosa</i> Baker	6	Single	Long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>Tillandsia</i> Subg. <i>Tillandsia</i>										
<i>T. baileyi</i> Rose ex Small	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. schiedeana</i> Steudel	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. simulata</i> Small	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. ionantha</i> Planchon	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elliptic	Two to three
<i>T. funkiana</i> Baker	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. mimia</i> L.B. Sm.	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. bulbosa</i> Hooker	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>T. polystachya</i> (L.) L.	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three

<i>T. festucoides</i> Brongniart ex Mez	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Present	Elongated	Two to three
<i>T. hammeri</i> Rauh & Ehlers	6	Single	Very long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>Tillandsia</i> Subg. <i>Diaphorantema</i>										
<i>T. usneoides</i> (L.) L.	4	Single	Long	Absent	Three	Three	Absent	Absent	Elliptic	Two to three
<i>Vriesea</i> Sec. <i>Vriesea</i>										
<i>V. ensiformis</i> (Vellozo) Beer	10	Single	Short	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. guttata</i> Linden & André	6	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. rodigasiana</i> E. Morren	6	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. friburgensis</i> Mez	12	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. reitzii</i> Leme & A. Costa	6	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. simplex</i> (Vellozo) Beer	8	Single	Long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. flava</i> A.F. Costa, H. Luther & Wand.	8	Single	Short	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. incurvata</i> Gaudich.	12	Single	Short	Present	Three	Two	Present	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. psittacina</i> (Hooker) Lindley	8	Single	Long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. vagans</i> (L.B. Sm.) L.B. Sm.	10	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. flammea</i> L.B. Sm.	10	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. corcovadensis</i> (Britten) Mez	6	Single	Very long	Present	Three	Two	Present	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. barclayana</i> (Baker) L.B. Sm.	6	Single	Short	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. weberi</i> E. Pereira & I.A. Penna	10	Single	Long	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. barilletii</i> E. Morren	8	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. bleherae</i>	10	Single	Long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. splendens</i> (Brongniart) Lemaire	10	Single	Short	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elliptic	Two to three
<i>V. espinosae</i> (L.B. Sm.) Gilmartin	--	Single	Very long	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. chrysostachys</i> E. Morren	8	Single	Short	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. laxa</i> Mez	10	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>Vriesea</i> Sec. <i>Xiphion</i>										
<i>V. drepanocarpa</i> Mez	4	Single	Long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. gigantea</i> Gaudich.	14	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elliptic	Two to three
<i>V. platynema</i> Gaudich.	12	Single	Long	Present	Three	Two	Present	Absent	Elongated	Two to three

<i>V. minuta</i> Leme	16	Single	Very long	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. rubra</i> (Ruiz & Pavón) Beer	8	Single	Short	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>V. unilateralis</i> (Baker) Mez	12	Single	Absent	Present	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>Werauhia</i>										
<i>W. sanguinolenta</i> (Linden ex Cogniaux & Marchal) J.R. Grant	20	Single	Short	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>W. gladioliflora</i> (H. Wendland) J.R. Grant	18	Single	Short	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three
<i>W. marnier-lapostollei</i> (L.B. Sm.) J.R. Grant	20	Single	Short	Absent	Three	Two	Absent	Absent	Elongated	Two to three

Character A: N° of columns of ovules in each locule
 Character B: Morphology of the chalazal appendage
 Character C: Length of chalazal appendages
 Character D: Outer integument longer than the inner integument
 Character E: N° of complete layers in outer integument
 Character F: N° of complete layers in inner integument
 Character G: Median layer of inner integument at chalazal portion
 Character H: Raphids in the ovule
 Character I: Gametophyte shape
 Character J: N° of layers of parietal tissue

Table 3: Summary of the relevant features observed in the genera of Tillandsioideae.

Species/ character	N° of columns of ovules in each locule	Length of chalazal appendages	Morphology of Chalazal appendages	Outer integument longer than the inner integument	N° of com- plete layers in outer integu- ment	N° of complete layers in inner integument
<i>Alcantarea</i>	Many (1)	Very long (1)	Single (1)	Absent	Three (1)	Two (1)
<i>Catopsis</i>	Few (3)	Very long (3)	Multiple (3)	Absent (3)	Four or more (3)	Three (3)
<i>Guzmania</i>	Many (16)	Absent (16)	---	Absent (9) Present (7)	Three (16)	Two (16)
<i>Racinaea</i>	Few (1)	Absent (1)	---	Absent (1)	Three (1)	Two (1)
<i>Tillandsia subg. Anoplophytum</i>	Many (7) Few (1)	Short (8)	Single (8)	Absent (8)	Three (8)	Three (8)
<i>Tillandsia subg. Phytarrhiza</i>	Many (7) Few (1)	Absent (4) Vestigial (1) Long (3) Very long (2)	Single (6)	Absent (8) Present (2)	Three (10)	Three (5) Two (5)
<i>Tillandsia subg. Allardtia</i>	Many (4)	Vestigial (1) Long (1) Very long (2)	Single (3)	Absent (3) Present (1)	Three (5)	Three (3) Two (1)
<i>Tillandsia subg. Tillandsia</i>	Many (10)	Very long (10)	Single (10)	Absent (10)	Three (10)	Three (1)
<i>Tillandsia subg. Diaphorantema</i>	Few (1)	Long (1)	Single (1)	Absent (1)	Three (1)	Two (1)
<i>Vriesea sect. Vriesea</i>	Many (20)	Short (6) Long (4) Very long (10)	Single (20)	Absent (4) Present (16)	Three (20)	Two (20)
<i>Vriesea sect. Xiphion</i>	Many (5) Few (1)	Absent (1) Short (1) Long (2) Very long (2)	Single (5)	Present (6)	Three (6)	Two (6)
<i>Werauhia</i>	Lots (3)	Short (3)	Single (3)	Present (3)	Three (3)	Two (3)

CAPÍTULO III

Bromeliaceae: Morfologia e tendências evolutivas do ovário e do
rudimento seminal

Resumo

A anatomia do ovário e do rudimento seminal de 21 espécies pertencentes à Bromeliaceae foi estudada através de microscopia fotônica e microscopia eletrônica de varredura com o intuito de fornecer dados sobre tendências evolutivas de caracteres embriológicos na família baseado na atual filogenia. Pode-se observar que estruturas especializadas na parede do ovário são apenas observadas em duas subfamílias de divergência tardia de Bromeliaceae (Bromelioideae e Puyoideae). Com relação aos tegumentos, a partir da condição ancestral verificada para a família, 2 camadas celulares, o tegumento externo apresentou aumento em sua espessura de forma ampla nos grupos de divergência posterior, e o tegumento interno apresenta espessura mais estável, sendo observado seu espessamento apenas em Hechtioideae, e certos gêneros de Tillandsioideae e Bromelioideae. O maior comprimento do tegumento interno, em relação ao externo, também ocorreu na maioria dos grupos, demonstrando certa estabilidade nos gêneros analisados. A condição plesiomórfica do apêndice calazal é a forma alongada e acuminada, o qual é mantida em grande parte das subfamílias. As condições de apêndices múltiplos, em *Catopsis*, e de um apêndice lateral, em *Puya*, são exclusivas destes gêneros. O apêndice calazal é reduzido em Bromelioideae e em muitos gêneros dessa subfamília e em certos gêneros de Tillandsioideae este apresenta-se como vestigial ou não se desenvolve. Nossos estudos indicam que certas características anatômicas do ovário e rudimento seminal são estáveis dentro de gêneros ou subfamílias e além de fornecer dados sobre tendências evolutivas dos aspectos reprodutivos na família, são potencialmente indicadas para análises filogenéticas quando utilizadas em conjunto.

Palavras-chave: anatomia, Bromeliaceae, embriologia, evolução, morfologia, rudimento seminal.

Introdução

Bromeliaceae é uma grande família de monocotiledôneas a qual esta incluída na ordem Poales (APG III 2009). Espécies dessa família são essencialmente neotropicais, sendo constituídas principalmente de indivíduos herbáceos estresse tolerantes (Benzing 2000) que podem se desenvolver em áreas expostas e ensolaradas, em locais extremamente áridos, como desertos, em florestas nebulosas, áreas pantanosas e em frígidos picos montanhosos (Benzing 2000, Givnish et al. 2007, Givnish et al. 2011). Dessa maneira, espécies de Bromeliaceae desenvolvem diferentes tipos de hábitos, podendo ser terrícolas, epifíticas ou rupícolas (Smith e Downs 1974, 1977, 1979). Tais atributos refletem em diversas peculiaridades morfológicas podendo ser observado desde plantas enraizadas no solo até indivíduos que formam estruturas rosetadas a partir de suas folhas, as quais geralmente acumulam água em seu interior (Benzing 2000; Crayn et al. 2004; Givnish 2011).

O sucesso na colonização de ambientes extremos foi acompanhado de diversas novidades evolutivas que permitiram a independência da água e de nutrientes do solo. Tal inovação está correlacionada com o hábito epifítico; com o surgimento de um conjunto de tricomas absortivos, que promovem a aquisição de água e nutrientes; e com o metabolismo fotosintético CAM, que diminui a perda de água durante a fotossíntese (Pittendrigh 1948; Crayn et al. 2004; Givnish et al. 2007; Schult et al. 2009).

Tradicionalmente, Bromeliaceae era subdividida em três subfamílias: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae, utilizando principalmente caracteres morfológicos na delimitação de cada grupo (Smith e Downs 1974, 1977, 1979; Smith e Till 1998).

Ao longo dos últimos trinta anos, diversos estudos foram realizados com o intuito de melhor compreender as relações taxonômicas entre as subfamílias e seus gêneros constituintes, baseando-se em estudos filogenéticos, utilizando dados morfológicos e moleculares (ex. Gilmartin e Brown 1984, 1987; 1989; Terry et al. 1997; Givnish et al. 2000; Givnish et al. 2004; Schulte et al, 2005; Souza et al 2007; Horres et al. 2000; Horres et al. 2007; Terry et al.1997; Crayn et al. 2004; Barfuss et al. 2005). Dessa forma, Givnish et al. (2007) dividem Bromeliaceae, em oito subfamílias: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae.

Em virtude da nova classificação, diversos caracteres morfológicos anteriormente utilizados não refletem mais a atual divisão de Bromeliaceae (Givnish 2007, 2011). Ainda, que o monofiletismo das subfamílias tenha sido comprovada, limites e relações genéricas ainda passam por constantes modificações, devido principalmente à utilização de caracteres morfológicos, os quais muitas vezes são homoplásicos, e prejudicam a delimitação de grupos naturais. Além disso, caracteres com potencial utilização, como estruturas florais, têm sido pouco estudados e são geralmente pouco acessíveis em material de herbário, sendo difícil compreender com precisão a variabilidade dessas estruturas.

O potencial taxonômico de caracteres morfológicos reprodutivos tem sido salientado por diversos autores (ex. Mahashwari 1950; Tobe 1989; Johri 1992; Rudall 1997; Endress e Igersheim 2000; De Toni e Mariath 2008, 2010; Endress 2011; Oriani e Scatena 2012, 2013). Em Bromeliaceae poucos estudos descrevem detalhadamente o rudimento seminal (ex. Rao e Wee 1979; Sajo et al. 2004; Conceição et al. 2007; Mendes 2012; Spat 2012; Fagundes e Mariath 2014, Nogueira et al., 2015) ou frutos e sementes (Palací 2004; Fagundes e Mariath, 2010; Magalhães e Mariath, 2012). Embora a maioria deles seja baseada em uma ou poucas espécies,

tais trabalhos têm apontado importantes resultados para o contexto taxonômico do grupo. Sajo et al. (2004) realizaram a maior amostragem para a família, na qual descreve o desenvolvimento do rudimento seminal de doze espécies pertencentes às três subfamílias tradicionais. No entanto, a amostragem utilizada em tal estudo não considera a atual classificação de Bromeliaceae proposta por Givnish et al. (2007, 2011). Fagundes e Mariath (2014) também realizam um estudo embriológico detalhado de *Billbergia nutans* e ainda realizam uma grande revisão sobre o tema, no entanto o principal foco do estudo era o megagametófito.

Levando em consideração o “*status*” do conhecimento atual sobre a morfologia do rudimento seminal em Bromeliaceae este artigo se propõe a examinar a morfoanatomia do rudimento seminal e do ovário de espécies pertencentes a Bromeliaceae, adicionando gêneros pertencentes a subfamílias ainda não estudadas, como *Navia*, *Hechtia*, e diferentes gêneros de Bromelioideae, subfamília com maior problemática na delimitação de gêneros, com o intuito de fornecer dados adicionais para uma ampla análise das tendências evolutivas do rudimento seminal e ovário em Bromeliaceae baseado na atual filogenia.

Material e métodos

Material Botânico

Para este estudo foram utilizadas 21 espécies pertencentes a 16 gêneros e 6 subfamílias de Bromeliaceae. O material botânico foi coletado nas seguintes coleções vivas: Coleções viva do Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVeg) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (RS - Brasil), do Jardim Botânico de Porto Alegre (RS - Brasil) e do Jardim Botânico Marie Selby (FL - Estados Unidos da América) sendo a relação das espécies, o local de coleta e o número de registro de cada espécie informados na Tabela 1.

Métodos

Flores em pré-antese foram coletadas, dissecadas e fixadas em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell e Trump 1976). Posteriormente o material foi lavado em tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 7,2) (Gabriel, 1982), desidratado em série etílica (10-100%) e incluído em resina hidroxietilmetacrilato (Gerrits e Smid, 1983).

Cortes com 4 µm de espessura foram confeccionados utilizando micrótomo de rotação Zeiss Mikron HM 340 E . Os cortes foram depositados sobre lâminas histológicas e secos em placa aquecedora a 50 °C. Para observação em microscopia fotônica o material foi corado com Azul de Toluidina O 0,05% (O'Brien e McCully, 1981) e a análise e o registro das imagens foram realizadas em microscópio Leica DMR-HC, com câmera digital AxionCam HRC Zeiss através do programa de captura de imagens Axionvision SE 64 v. 4.9.1.

Para as análises em microscopia eletrônica de varredura as amostras foram desidratadas em série crescente de acetona e submetidas a secagem pelo método do ponto crítico (Gerstberger e Leins, 1978), utilizando aparelho metalizador BAL-TEC, CPD 030. As amostras foram aderidas a suportes de alumínio e recobertas com ouro utilizando o equipamento BAL-TEC SCD 050. As observações e o registro eletromicrográfico digital foram realizados em microscópio JEOL 6060, sob 10kV.

A partir dos caracteres morfológicos do ovário e do rudimento seminal, foi gerada uma tabela para a compilação dos dados adquiridos (Tabela 2).

Resultados

As espécies estudadas apresentam certas diferenças com relação a posição do ovário e sua anatomia, no entanto todas possuem ovário tricarpelar e trilocular com placentação axial.

Espécies pertencentes a Tillandsioideae, Navioideae, Hechtioideae, Puyoideae e Pitcairnioideae possuem ovário súpero (Fig. 1a), enquanto espécies de Bromelioideae possuem ovário ínfero (Fig. 1b).

A presença de tricomas epidérmicos na face abaxial ocorre em duas espécies de Bromelioideae, *Aechmea organensis* e *Bromelia antiacantha* (Fig. 1c, d). Enquanto a presença de estômatos, nessa mesma face, é observada em *B. antiacantha* (Bromelioideae) (Fig. 1e), em *Puya ferruginea* (Puyoideae) e *Dyckia velascana* (Pitcairnioideae).

O mesofilo da parede do ovário das espécies analisadas também apresenta diferentes padrões. Um parênquima do tipo homogêneo constituído por células com formato isodiamétrico com poucos espaços intercelulares ocorre em espécies certas espécies de Bromelioideae, em Tillandsioideae, em Pitcairnioideae, em Navioideae e em Hechtioideae (Fig. 1f). Em *Puya ferruginea* (Puyoideae) o mesofilo apresenta grandes espaços de aeração distribuídos próximo à face abaxial, e em *Canistrum pickelii* (Bromelioideae) o mesofilo apresenta um aerênquima estruturado, distribuído próximo à face adaxial (Fig. 1g). As seguintes espécies de Bromelioideae apresentam espessamento de colênquima nas células hipodérmicas da face abaxial - *A. organensis*, *A. orlandiana*, *Quesnelia liboniana*, *Neoglaziovia variegada* e *Portea alatisepala* (Fig. 1h).

Em cada carpelo, um feixe vascular dorsal está presente no mesofilo em espécies pertencentes a Tillandsioideae, Navioideae, Pitcairnioideae e Puyoideae. Diferentemente, em Hechtioideae e em duas espécies de Bromelioideae, *Cryptanthus acaulis* e *O. lemei*, ocorre a presença de até 3 feixes vasculares no mesofilo e nas demais espécies pertencentes a Bromelioideae estão presente diversos feixes vasculares. Todas as espécies amostradas apresentam feixes vasculares do tipo colateral. Em *P. alatisepala* e em *A. organensis*, ambas

pertencentes a Bromelioideae, observa-se um conjunto de fibras contornando o feixe vascular, com uma maior número de células na região floemática (Fig. 1h).

A presença de idioblastos compostos por ráfides é identificada no mesofilo de todas as espécies analisadas, todavia a quantidade e organização dessas células varia entre as diferentes espécies (Fig. 1g). Em seção transversal do ovário as espécies de Bromelioideae e *P. ferruginea* (Puyoideae) apresentam um maior número de idioblastos por área do que as espécies das demais subfamília. A distribuição destas células apresenta-se de forma aleatória em todas as espécies amostradas, exceto em *N. variegata* (Bromelioideae) no qual estas apresentam-se organizadas na porção abaxial do mesofilo.

Em espécies de Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae e em duas espécies de Bromelioideae, *P. alatisepala* e *C. pickelii* o rudimento seminal é orientado com seu eixo micropilar-calazal obliquamente em relação ao eixo longitudinal do ovário (Fig. 2a). Nas demais espécies de Bromelioideae, bem como espécies de Pitcairnioideae e em *P. ferruginea* (Puyoideae), o rudimento seminal é orientado com seu eixo micropilar-calazal perpendicularmente disposto com relação ao maior eixo do ovário (Fig. 1c, d, Fig. 2c).

Duas colunas de rudimentos seminais se organizam em cada lóculo do ovário em espécies de *Hechtia* (Hechtioideae), *Navia lactea* (Navioideae), *Dyckia velascana* (Pitcairnioideae), *B. antiacantha* e em *N. variegata* (Bromelioideae) (Fig. 2c). Quatro colunas de rudimentos seminais estão presentes em *Tillandsia fasciculata* (Tillandsioideae) e em *A. orlandiana* (Bromelioideae); seis nas demais espécies de Bromelioideae; oito em *Vriesea scalaris* (Tillandsioideae); dez em *Guzmania rauhiana* (Tillandsioideae); e doze ou mais colunas nas espécies de *Pitcairnia* (Pitcairnioideae) e em *P. ferruginea* (Puyoideae) (Fig. 2b).

Diversos detalhes do rudimento seminal foram observados sendo estabelecidos alguns padrões entre os gêneros analisados. Com relação ao comprimento dos tegumentos foi evidenciado que o tegumento externo é mais longo do que o interno em *O. lemei*, *C. pickelii* (Bromelioideae) e *V. scalaris* (Tillandsioideae) (Fig. 2d). O tegumento interno é mais longo que do externo em *G. rauhiana*, *T. fasciculata* (Tillandsioideae), *N. lactea* (Navioideae), *P. ferruginea* (Puyoideae), em espécies de Pitcairnioideae e Hechtioideae, e nas seguintes espécies pertencentes a Bromelioideae: *A. organensis*, *A. orlandiana*, *B. antiacantha*, *C. acaulis*, *Q. liboniana*, *N. variegata* e *P. alatisepala* (Fig. 2e).

Com relação à espessura dos tegumentos, foi observado que duas camadas celulares contínuas estão presentes no tegumento externo dos gêneros *Navia*, *Puya*, *Pitcairnia* e em muitas espécies de Bromelioideae (Fig. 2g, h). Por outro lado, três camadas celulares são observadas em espécies de Tillandsioideae (Fig. 2d, e) e nas espécies de Bromelioideae, *Q. liboniana*, *P. alatisepala*, *A. organensis*, *A. orlandiana*, sendo que na última subfamília citada, a camada média não é contínua (Fig. 2i, j, Fig. 3d). Por fim, três camadas celulares contínuas, e uma quarta camada descontínua, constituem o tegumento externo de *D. velascana* (Pitcairnioideae), *B. antiacantha* (Bromelioideae) e *Hechtia* (Hechtioideae) (Fig. 2f). No tegumento interno a maioria das espécies amostradas apresentam duas camadas celulares contínuas ao longo do comprimento do nucelo (Fig. 2d, g, h, j). Todavia em *Hechtia epigyna* (Hechtioideae) e *B. antiacantha* (Bromelioideae) além das 2 camadas celulares contínuas existe a formação de uma camada média, a qual é descontínua (Fig. 2f). Em *Tillandsia*, três camadas contínuas são observadas (Fig. 2e). As células da camada interna do tegumento externo são levemente alongadas em todas as espécies analisadas, no entanto em *Navia lactea* essa característica é muito pronunciada (Fig.

2g, h). As células da camada interna do tegumento interno se dividem, formando uma ou mais camadas apenas na região da micrópila em todas as espécies (Fig. 2d, e, f, g).

A presença de apêndice calazal é observada em espécies de Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Puyoideae, Pitcairnioideae e certas espécies de Bromelioideae (Fig. 3a, b). Nas espécies *A. orlandiana*, *Q. liboniana*, *O. lemei* e *B. antiacantha* (Bromelioideae), o apêndice calazal é rudimentar. O apêndice calazal é ausente em *G. rauhiana* (Tillandsioideae), *N. variegata* e *A. organensis* (Bromelioideae) (Fig. 3c).

Embora o apêndice calazal apresente uma forma acuminada em todas as espécies que apresentam esse caráter, certos aspectos de sua morfologia podem variar. O apêndice calazal pode se desenvolver a partir da região calazal e se direcionar para à face da rafe, como observado em Tillandsioideae em *T. fasciculada* e *V. scalaris*, Navioideae em *N. lactea*, todas as espécies de Pitcairnioideae amostradas e em Bromelioideae apenas a espécie *Cryptanthus acaulis* (Fig. 2g). De outra forma, o apêndice calazal pode apresentar-se sem curvatura ou levemente direcionado à face da antirafe, em todas as espécies de Hechtioideae e em Bromelioideae nas espécies *P. alatisepala*, *A. orlandiana*, e *C. pickelii* (Fig. 2i, Fig. 3a). O apêndice calazal também pode se desenvolver lateralmente na região da antirafe, perpendicularmente a região calaza-micrópila, como em Puyoideae em *P. ferruginea* (Fig. 3b).

Na região micropilar o tecido parietal e a epiderme nucelar apresentaram variações com relação ao número de camadas presentes nas diferentes espécies analisadas. Com relação ao tecido parietal uma camada celular é evidenciada em todas as espécies de Pitcairnioideae e em Bromelioideae nas espécies *A. organensis*, *A. orlandiana* e *Q. liboniana* (Fig. 3e) duas camadas estão presentes em *N. lactea* (Navioideae), em todas as espécies de Tillandsioideae, *P. ferruginea* (Puyoideae), *B. antiacantha*, *C. piquei*, *C. acaulis* e *O. lemei* (Bromelioideae)(Fig. 3

b); e três camadas em todas espécies de Hechtioideae e *N. variegata* e *P. alatisepala* (Bromelioideae) (Fig. 3f).

Na epiderme nucelar, uma camada celular ocorre em *N. lactea* (Navioideae), em espécies de Pitcairnioideae, e em Bromelioideae nas espécies *C. pickelii*, *C. acaulis*, *A. organensis* e *A. orlandiana* (Fig. 2g). Duas camadas em espécies de Hechtioideae, em Tillandsioideae nas espécies *G. rauhiana* e *T. fasciculada*, em Puyoideae na espécie *P. ferruginea* e em Bromelioideae nas espécies *Q. liboniana* e *N. variegata* (Fig. 3e). Até três camadas são observadas em *P. alatisepala* (Bromelioideae) e *V. scalaris* (Tillandsioideae) (Fig. 3f).

Outra característica da epiderme nucelar observada em certas espécies de Bromeliaceae é o alongamento anticlinal das células localizadas na região da micrópila. Esse atributo é evidenciado em todas as subfamílias analisadas, no entanto Bromelioideae apresenta algumas espécies em que o alongamento não ocorre como *P. alatisepala*, *C. pickelii*, *Q. liboniana* e *N. variegata*. Em espécies no qual a epiderme nucelar não se alonga, a porção micropilar do nucelo apresenta forma de domo (Fig. 3 c, f). Nas espécies que expressam tal alongamento, a porção micropilar do nucelo apresentam um aspecto “protuberante” (Fig. 3b, d).

Por fim, outra peculiaridade presente no rudimento seminal de espécies de *P. ferruginea* (Puyoideae) e *N. lactea* (Navioideae) é a ocorrência de idioblastos contendo ráfides (Fig. 2g, h).

A partir dos resultados aqui apresentados e da compilação de dados adicionais sobre o rudimento seminal de Bromeliaceae existentes na literatura, uma figura foi gerada a fim de demonstrar tendências evolutivas do rudimento seminal na família (Fig. 4).

Discussão

Tradicionalmente a divisão de Bromeliaceae em três subfamílias baseava-se em características do fruto, semente e posição do ovário (Mez 1934-35; Smith e Downs 1974, 1977,

1979). Bromelioideae apresenta espécies com ovários completamente ínfero, enquanto Tillandsioideae apresenta espécies com ovário completamente súpero, exceto em *Glomeropitcairnia* e *Alcantarea* que apresentam ovário semi-ínfero (Smith e Downs, 1977; Coffani-Nunes, 2010). As demais subfamílias atuais, correspondentes a Pitcairnioideae *sensu lato*, apresentam um polimorfismo desse caráter onde diferentes níveis de inserção do perianto são observados, oscilando entre os dois primeiros tipos citados (Benzing 2000; Barfuss et al. 2005). Em nossos resultados, espécies pertencentes a Navioideae, Hechtioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e à Tillandsioideae apresentaram ovário súpero. Diferentemente, todas as espécies pertencentes a Bromelioideae apresentaram ovário ínfero, estando de acordo com o estabelecido para cada subfamília.

Eventos que ocorrem durante o processo ontogenético de um órgão específico refletem em modificações de estruturas de formação subsequentes. As alterações na posição do ovário, durante a diversificação dessa estrutura em Bromeliaceae, proporcionaram a diversidade no tipo de frutos dentro da família, ocorrendo sementes com ou sem apêndices e frutos do tipo cápsula ou baga (Baker 1889; Mez 1934-35; Smith e Downs 1974, 1977, 1979). Dessa forma, é evidente que durante a evolução, a diversidade morfológica dessa estrutura não ficou restrita a sua posição, sendo também observadas anatômicas entre as subfamílias analisadas. Tal fato é provavelmente resultado de variações na estrutura morfológica das inflorescências e variações no habitat de cada grupo. O mesofilo do tipo homogêneo é observado na maioria das subfamílias, sendo observado um padrão diferenciado apenas em Puyoideae e Bromelioideae. A ocorrência de estruturas especializadas em Puyoideae e em Bromelioideae, reforça a relação de proximidade entre estes grupos e corrobora a atual filogenia para a família, onde estas apresentam-se como grupos irmãos com divergência tardia em Bromeliaceae (Givinish et al. 2007; Givinish et al.

2011). No entanto, embora exista semelhança entre os canais de aeração observados no mesofilo do ovário de *P. ferruginea* e os canais de aeração, bem estruturados, de *C. pickelii*, o qual foi definido como um aerênquima, é difícil traçar uma correlação entre as funções destas estruturas. O aerênquima encontrado no gênero *Canistrum* e demais gêneros relacionados parece ser resultado de condições de hipoxia que a estrutura floral é submetida, após a retenção de água no interior de sua roseta (Nogueira et al., 2015). Em *P. ferruginea* tal condição parece não ocorrer, uma vez o padrão de sua inflorescência não permite o acúmulo de água sobre suas flores.

Apesar da escassa literatura a respeito da anatomia do ovário, Nogueira et al. (2015) apontam a existência de aerênquima do tipo esquizógeno em todos os gêneros do complexo Nidulariíide (Bromelioideae) e no gênero *Canistrum*, o qual aparece como grupo irmão do complexo. O fato de *C. pickelii*, amostrado neste trabalho, possuir aerênquima suporta a afirmação de Nogueira et al. (2015) de que essa é uma característica marcante entre esses gêneros relacionados.

A presença de tricomas e espessamento de colênquima na parede do ovário descrita para espécies pertencentes a Bromelioideae, observadas neste trabalho, também foi descrita para certas espécies do complexo Nidulariíide (Nogueira et al., 2015).

O número de rudimentos seminiais por carpelo em Bromeliaceae foi discutido por Fagundes e Mariath (2014), sendo este apontado como caráter de grande valor taxonômico para a família. Embora a condição de muitos rudimentos seminiais por carpelo tenha sido amplamente observada em diversos gêneros de Bromeliaceae (Sajo et al. 2004; Papini et al. 2011; Spat, 2012, Nogueira et al. 2015), Fagundes e Mariath (2014) sugerem que a condição de poucos rudimentos seminiais seja plesiomórfica, uma vez que este atributo é observado na subfamília Brocchinioideae, a qual possui posição cedo divergente em Bromeliaceae (Givnish et al. 2007;

Givnish et al. 2011) e nos gêneros *Catopsis* (Palací, 2004; Capítulo 2) e *Ananas* (Wee e Rao 1974; Rao e Wee 1979), também cedo divergentes em Tillandsioideae (Barfuss et al. 2005) e Bromelioideae (Givnish et al. 2011; Silvestro et al. 2014), respectivamente.

Os dados observados neste estudo demonstram a existência de poucos rudimentos seminiais por lóculo em *Bromelia*, gênero cedo divergente em Bromelioideae, corroborando a suposição mencionada anteriormente sobre a condição plesiomórfica desse estado de caráter na família.

Em monocotiledôneas a condição de dois tegumentos no rudimento seminal é a mais comum (Maheshwari 1950; Endress 1994), sendo tal caráter também descrito para as seguintes subfamílias de Bromeliaceae: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae (Wee e Rao 1974; Rao e Wee 1979; Sajo et al. 1994; Conceição et al. 2007; Mendes 2008, 2012; Fagundes e Mariath 2014; Nogueira et al. 2015). Neste estudo também é descrito, pela primeira vez, tal atributo para as subfamílias Hechtioideae e Navioideae.

De acordo com Endress (2011) o número de camadas presente nos tegumentos é um caráter relativamente estável, sendo interessante para análises macrosistemáticas. Com relação ao comprimento e espessura dos tegumentos do rudimento seminal, a condição plesiomórfica dentro de Bromeliaceae parece ser o tegumento externo é mais longo do que o interno, e ambas as estruturas com duas camadas de espessura. Tal afirmação baseia-se no fato desses estados de caráter serem observados em Brocchinioideae (Sajo et al., 2004), grupo irmão das demais subfamílias de Bromeliaceae (Givnish et al. 2007; Givnish et al. 2011). Esses atributos parecem ser mantidos em Lindmanioideae (Lakshmanan, 1967), subfamília que divergiu posteriormente a Brocchinioideae (Givnish et al. 2007; Givnish et al. 2011). Em Tillandsioideae e Hechtioideae, o

tegumento externo torna-se mais espesso, como observado nas espécies analisadas neste estudo, e nas demais espécies de *Vriesea*, *Tillandsia*, *Guzmania*, *Racinaea*, *Alcantarea*, *Werauhia* (Capítulo 2), em *Tillandsia recurvata* (Birge, 1911) e em *T. aeranthos* (Spat, 2012). O tegumento interno também demonstra espessamento em *Tillandsia* e *Catopsis* (Tillandsioideae) e em *Hechtia* (Hechtioideae).

Em *Hechtia* (Hechtioideae) e na maioria dos gêneros de Tillandsioideae o tegumento interno torna-se mais longo que o externo, no entanto a característica ancestral é mantida em dois gêneros de Tillandsioideae: *Vriesea* e *Guzmania*. Conforme observado no Capítulo 2, *Vriesea* apresenta espécies com tegumento externo mais longo do que o interno e em *Guzmania* os dois estados de carácter são observados.

Em Navioideae, Puyoideae e no gênero *Pitcairnia* (Pitcairnioideae), não se observa espessamento dos tegumentos em relação a condição ancestral. No entanto, no gênero *Dyckia* (Pitcairnioideae), passa a ocorrer três ou mais camadas celulares, apenas no tegumento externo. Com relação ao comprimento, todos eles diferem de Brocchinioideae. Os dados aqui apresentados são corroborados pelos resultados de Sajo et al. (2004) para espécies de *Pitcairnia* e *Puya*.

Em Bromelioideae se observa a maior diversidade morfológica dos tegumentos, sendo difícil estabelecer um estado de carácter, no entanto, pode-se estabelecer tendências para a subfamília. Em gêneros cedo-divergentes, observa-se o espessamento dos tegumentos. Em *Bromelia*, gênero analisado neste trabalho, ocorre o acréscimo de uma camada em ambos os tegumentos e em *Ananas*, estudado por Wee e Rao (1974), ocorre o acréscimo de uma camada apenas no tegumento externo. Em gêneros que divergiram tardiamente a espessura do tegumento interno se manteve em duas camadas, não obstante, o tegumento externo apresenta acréscimo de

uma camada em diversas espécies do “core Bromelioideae” *sensu* Schulte et al. (2009) analisadas nesse trabalho, em Fagundes e Mariath (2014) e Nogueira et al. (2015).

O tegumento interno mais longo em relação ao externo ocorre na maioria das espécies estudadas em Bromelioideae, exceto em *C. pickelii* e *O. lemei*, analisadas neste trabalho, *O. vagans* e *Quesnelia edmundoi* (Sajo et al. 2004) e em espécies do Complexo Nidulariíóide (Nogueira et al. 2015).

Dessa forma, podemos constatar que o aumento na espessura do tegumento externo ocorreu de forma abrangente em Bromeliaceae, por outro lado, o tegumento interno apresentou espessura mais estável sendo observado a adição de camadas apenas em Tillandsioideae e Hechtioideae, subfamílias filogeneticamente relacionadas (Givnish et al., 2011) e em gêneros cedo divergentes de Bromelioideae. Ainda, o comprimento dos tegumentos também demonstrou estabilidade na família, ocorrendo o alongamento do tegumento interno na maioria das subfamílias. O caráter ancestral, em que o tegumento externo é mais longo aparece novamente em dois gêneros de Tillandsioideae (*Vriesea* e *Guzmania*) e gêneros de divergência tardia em Bromelioideae.

O desenvolvimento de um apêndice calazal no rudimento seminal em Bromeliaceae foi descrito para diversas espécies, sendo observados diferentes formas e tamanhos. Sajo et al. (2004) descrevem a presença de um apêndice bastante alongado e acuminado em *Brocchinia reducta*. Essa mesma morfologia foi observada nas duas espécies de Tillandsioideae, analisadas neste estudo, *T. fasciculata* e *V. scalaris*. Todavia, para estas espécies, é salientada a curvatura do apêndice calazal em direção à face da rafe, sendo esse atributo também observado em 27 espécies de *Tillandsia*, 24 de *Vriesea*, três de *Werauhia*, *Alcantarea simplicisticha*, todas analisadas no Capítulo 2, em *T. recurvata* (Birge 1911), em e *Tillandsia complanata* (Palací

2004). De outra forma, *Catopsis* (Tillandsioideae) apresenta múltiplos apêndices calazais, como descrito em *Catopsis morreniana* (Sajo et al. 2004; Capítulo 2), *Catopsis paniculata* (Palací 2004), *Catopsis berteroniana* e *Catopsis nutans* (Capítulo 2). Ainda, nosso estudo demonstra que *Guzmania rauhiana*, também pertencente a Tillandsioideae, não possui apêndices calazais, corroborando os resultados existentes para *Guzmania* em *Guzmania madisonii* (Sajo et al. 2004) e outras 16 espécies do gênero *Guzmania* analisadas no Capítulo 2.

O apêndice calazal de *N. lactea* (Navioideae), e as duas espécies de *Hechtia* (Hechtioideae), aqui descritas pela primeira vez, também apresentam a mesma morfologia observada em *Brocchinia* (Sajo et al. 2004). No entanto, em *N. lactea* a curvatura dessa estrutura é em direção à face da rafe, da mesma forma que em Tillandsioideae, e em espécies de *Hechtia* essa curvatura não ocorre. Todas as espécies de Pitcairnioideae amostradas neste estudo apresentaram apêndice calazal longo e direcionados a face da rafe, corroborando dados de Sajo et al. (2004), para *Pitcairnia paniculata* e *Dyckia hebdingii* e de Conceição et al. (2007) para *Dyckia pseudococcinea*. A morfologia do apêndice calazal em *P. ferruginea*, descrita em nossos resultados, também foi observada por Sajo et al. (2004) em *Puya floccosa*. Em Bromelioideae, a maioria dos gêneros aqui apresentados possuem apêndice calazal vestigial ou pequeno e sem curvatura, exceto em *C. acaulis* que apresenta apêndice calazal com curvatura em direção à face da rafe. Esses dados corroboram os demais estudos para Bromelioideae sendo que Fagundes e Mariath (2014) descrevem um apêndice calazal rudimentar ou pequeno com curvatura em direção à face da antirafe em *Bilbergia nutans*, e Nogueira et al. (2015) demonstram a existência de apêndice calazal vestigial em duas espécies ou a sua ausência nas demais espécies pertencentes ao complexo Nidulariíode. Da mesma forma Sajo et al. (2004) descrevem a presença de apêndice calazal rudimentar em *Ortophythum vagans* e *Quesnelia edmundoi*.

Assim, levando em consideração a atual filogenia proposta para a família (Givinish et al. 2007, 2011) podemos inferir que a condição plesiomórfica do rudimento seminal é a forma alongada e acuminada descrita em *B. reducta* (Sajo et al. 2004). Em Tillandsioideae essa estrutura se apresenta em forma de múltiplos apêndices calazais em *Catopsis*, sendo esse um caráter apomórfico dentro de Bromeliaceae. O apêndice calazal retém a morfologia do tipo acuminada e se direciona a face da rafe em *Tillandsia*, *Vriesea*, *Werauhia* e *Alcantarea*, e em *Guzmania*, essa estrutura é perdida. Em Hechtioideae, o apêndice calazal permaneceu com a mesma morfologia ancestral. Navioideae e Pitcairnioideae também demonstram a retenção do caráter ancestral, no entanto ocorre a curvatura do apêndice calazal em direção a face da rafe. Em Puyoideae, a morfologia torna-se diferenciada com a redução nessa estrutura, que se torna lateralmente proeminente com o ápice da calaza achatado. Em Bromelioideae parece haver uma redução no comprimento em relação ao estado ancestral, sendo esse estado de caráter perdido em vários casos, e a curvatura dessa estrutura não ocorre ou se direciona a face da antirafe.

Ainda, é importante ressaltar que essa estrutura apresenta morfologia estável em diversos grupos da família, sendo portanto, útil para a delimitação taxonômica destes. A análise ampla desse caráter na família, observada neste trabalho, proporciona uma visão das tendências que operaram na evolução dessa estrutura em Bromeliaceae.

Com relação à natureza do nucelo, este é classificado de acordo como tipo de desenvolvimento da célula arquesporial. Em monocotiledôneas a condição crassinucelada é a mais recorrente (Rudall 1997), sendo este o tipo de nucelo observado nas espécies analisadas no presente estudo. O tecido parietal de grande parte das espécies aqui amostradas apresenta duas camadas celulares, ocorrendo uma camada celular apenas nas espécies pertencentes a Pitcairnioideae e em certas espécies de Bromelioideae. A presença de uma camada parietal

também foi descrita para *Pitcairnia paniculata* (Conceição et al. 2007) e *Dyckia pseudococcinea* (Sajo et al. 2004), demonstrando a estabilidade do caráter em Pitcairnioideae. Três camadas de tecido parietal foram observadas em *N. variegata* e *P. alatisepala* (Bromelioideae), e em Hechtioideae, bem como em espécies do complexo Nidulariíode amostradas por Nogueira et al. (2015).

Levando em conta a posição cedo-divergente de Brocchinioideae (Givnish et al. 2007; 2001) e a presença de apenas uma camada de tecido parietal em *B. reducta* (Sajo et al. 2004), pode-se sugerir que o caráter ancestral sofreu ampliação desse estrato para duas ou três camadas nas subfamílias que divergiram posteriormente. No entanto, observa-se a retenção ou a reversão da condição ancestral em Pitcairnioideae e certos gêneros de Bromelioideae, para novamente uma camada de tecido parietal.

O tecido parietal e a epiderme nucelar estão intimamente relacionados, dessa forma, em certos grupos de angiospermas a epiderme nucelar pode também sofrer divisões periclinais contribuindo com o volume do nucelo (Bouman 1984). A maioria das espécies analisadas demonstram a existência de duas camadas celulares epidérmicas na região da micropila. No entanto, *N. lactea* (Navioideae), Pitcairnioideae e certas espécies de Bromelioideae apresentaram a condição de apenas uma camada celular epidérmica.

Bromelioideae foi a única subfamília a apresentar espécies com epiderme nucelar não alongada, sendo este atributo também descrito por Sajo et al. (2004) para *Orthophytum vagans*, *A. alba*, *A. conglomerata* e *A. fosteriana* e por Nogueira et al. (2015) para *Canistrum auratiacum*, *Canistropsis bilbergioides* e *Edmundoa lindonii*. Na reinterpretação das imagens do estudo de Sajo et al. (2004) observa-se também a epiderme nucelar não alongada em *B. reducta* (Brocchinioideae), indicando essa morfologia como o estado ancestral do caráter (Givnish et al.,

2007, 2011). Assim, pode-se inferir que, a partir do estado de caráter, ancestral a morfologia da epiderme nucelar se alongou em todas as subfamílias, sendo observada novamente a regressão desse caráter (morfologia não alongada) em certos gêneros de Bromelioideae.

Conclusão

Os dados gerados no estudo de 21 espécies e 16 gêneros de Bromeliaceae aqui apresentados, adicionados a informações sobre o rudimento seminal presentes na literatura, proporcionaram uma análise ampla do ovário e rudimento seminal de representantes de todas as subfamílias de Bromeliaceae. Dessa forma, características que apresentam diferentes estados de variação do caráter dentro da família, mostraram-se homogêneas em determinadas subfamílias ou gêneros, permitindo assim inferir diversas tendências sobre a evolução de tais estruturas. Dentro desse contexto, é importante ressaltar as modificações ocorridas nas diferentes subfamílias em relação a novas características destacadas da parede do ovário, espessura e alongamento dos tegumentos e modificações morfológicas do apêndice calazal e da região nucelar micropilar.

Referências bibliográficas

- Angiosperm Phylogeny Group III (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc* 161: 105–121.
- Baker, JG (1889) Handbook of the Bromeliaceae. London: George Bell and Sons.
- Barfuss M, Samuel R, Till W, Stuessy TF (2005) Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *Amer. J. Bot.* 92: 337–351
- Benzing, DH (2000) Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press, Cambridge
- Birge WI (1911) The anatomy and some biological aspects of the ball moss, *Tillandsia recurvata* L. *Bull. Univ. Texas, Sci. Ser.* 194 (20): 1–24
- Bouman F (1984) The ovule. In B. M. Johri (ed), *Embryology of Angiosperms*. Berlin: Springer-Verlag. pp. 123-157.
- Coffani-Nunes JV, Versieux LM, Wanderley MGL, Pirani JR. 2010. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Bromeliaceae - Tillandsioideae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 28(1): 35-54.
- Conceição S, De Toni KLG, Costa CG (2007) Particularidades do nucelo de *Dyckia pseudococcinea* L.B. Smith (Bromeliaceae). *Revista Brasileira Biociencias* 5:846–848
- Crayn DM, Winter K, Smith JAC (2004) Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 3703–3708

- De Toni KLG, Mariath JEA (2008) Ovule ontogeny in Rubiaceae (Juss.): *Chomelia obtusa* (Cinchonoideae–Guettardeae) and *Ixora coccinea* (Ixoroideae–Ixoreae). *Pl. Syst. Evol.* 272:39–48
- De Toni KLG, Mariath JEA (2010) Ovule ontogeny of *Relbunium* species in the evolutionary context of Rubiaceae. *Austral. J. Bot.* 58:70–79
- Endress PK (1994) Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. *Pl. Syst. Evol.* 192: 79-97
- Endress PK and Igersheim A (2000) Gynoecium Structure and Evolution in Basal Angiosperms. *Int. J. Pl. Sci.* 161(6 Suppl.):S211–S223
- Endress PK (2011) Angiosperm ovules: diversity, development, evolution. *Ann. Bot. (Oxford)* 107:1465–1489
- Fagundes NF and Mariath JEA (2014) Ovule ontogeny in *Billbergia nutans* in the evolutionary context of Bromeliaceae (Poales). *Pl. Syst. Evol.* 300: 1323-1336.
- Gabriel BL (1982) Biological electron microscopy. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Gerrits PO and Smid L (1983) A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *J. Microscopy* 132:81–85
- Brown GK, Gilmartin AJ (1984) Stigma structure and variation in Bromeliaceae - neglected taxonomic characters. *Brittonia* 36(4): 364-374
- Gilmartin AJ and Brown GK (1987) Bromeliales, related monocots, and resolution of relationships among Bromeliaceae subfamilies. *Syst. Bot.* 12: 493–500

- Gilmartin AJ, Brown GK, Varadarajan GS, Neighbors N (1989) Status of *Glomeropitcairnia* within evolutionary history of Bromeliaceae. Syst. Bot. 14: 339–348
- Givnish TJ, Evans TM, Zjhra ML, Patterson TB, Berry PE, Sytsma KJ (2000) Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: Evidence from ndhF sequences and morphology. Evolution 54: 1915–1937
- Givnish TJ, Millam KC, Evans TM, Hall JC, Pires JC, Berry PE, Sytsma KJ (2004) Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American- African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on ndhF sequence data. Int. J. Pl. Sci. 165: 35-54
- Givnish TJ, Millam KC, Berry PE, Sytsma KJ (2007) Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. Aliso 23: 3-26.
- Givnish TJ, Barfuss MHJ, Van Ee B, Riina R, Schulte K, Horres R, Gonsiska PA, Jabaily RS, Crayn DM, Smith AC, Winter K, Brown GK, Evans TM, Holst BK, Luther H, Till W, Zizka G, Berry PE, Sytsma KJ (2011) Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. Amer. J. Bot. 98: 872–895.
- Horres R, Zizka G, Kahl G, Weising K (2000) Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from trnL (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. Pl. Biol. (Stuttgart) 2: 306–31.
- Horres R, Schulte K, Weising K, Zizka G (2007) Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae) – evidence from molecular and anatomical studies. Aliso 23: 27– 43.
- Johri BM, Ambegaokar KB, Srivastava PS (1992) Comparative embryology of angiosperms. Springer-Verlag, Berlin.

- Lakshmanan KK (1967) Embryological studies in the Bromeliaceae. I. *Lindmania penduliflora* (C. H. Wright) Stapf. Proc. Indian Acad. Sci., B 65: 49–55.
- Magalhães RI, Mariath JEA (2012) Seed morphoanatomy and its systematic relevance to Tillandsioideae (Bromeliaceae). Pl. Syst. Evol. 298:1881–1895.
- Maheshwari P (1950) An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill Book Co., New York.
- McDowell EM and Trump BF (1976) Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 100 (8):405-414.
- Mendes SP (2008) Endospermogênese e embriogênese de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Smith (Bromeliaceae). Dissertation. Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Mendes SP (2012) Estudos embriológicos em *Pitcairnia encholirioides* L.B.Sm. (Pitcairnioideae – Bromeliaceae). PhD Thesis, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Mez C (1934-5) Bromeliaceae. In: Engler HGA and L. Diels (eds) Das Pflanzenreich. Regni Vegetabilis Conspectus 4. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Nogueira FM, Fagundes NF, Kuhn SA, Fregonezi JN, Mariath JEA (2015) Ovary and ovule anatomy in the Nidularioid complex and its taxonomic utility (Bromelioideae-Bromeliaceae). Bot. J. Linn. Soc. 177 (1): 66-77.
- O'Brien TP and Mccully ME (1981) The study of plant structure: principles and selected methods. Termacarphi Pty, Melbourne.
- Oriani A, Stutz T, Scatena VL (2012) Contributions to the floral anatomy of Juncaceae (Poales—Monocotyledons). Flora 207:334–340.
- Oriani A, Scatena VL (2013) The taxonomic value of floral characters in Rapateaceae (Poales—Monocotyledons). Pl. Syst. Evol. 299:291–303.

- Palací CA, Brown GK, Tuthill DE (2004) The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Syst. Bot.* 29:518–527.
- Papini A, Mosti S, Milocani E, Tani G, Di Falco P, Brighigna L (2011) Megasporogenesis and programmed cell death in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Protoplasma* 248: 651–662.
- Pittendrigh CS (1948) The Bromeliad-Anopheles-Malaria Complex in Trinidad. I-The Bromeliad Flora. *Evolution* 2: 58–89. doi: 10.2307/2405616
- Rao AN, Wee YC (1979) Embryology of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. *New Phytol.* 83:485–497.
- Rudall PJ (1997) The Nucellus and Chalaza in Monocotyledons: Structure and Systematics. *Bot. Rev.* 63(2):140-18.
- Sajo MG, Prychid CJ, Rudall PJ (2004) Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. *Kew Bull.* 59:261–267.
- Schulte K, Horres R, Zizka G (2005) Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family. *Senckenberg. Biol.* 85: 1–13.
- Schulte K, Barfuss MHJ, Zizka G (2009) Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Molec. Phylogen. Evol.* 51: 327–339.
- Shamrov II (1998) Ovule classification in flowering plants - New approaches and concepts. *Bot. Jahrb. Syst.* 120: 377-407.
- Silvestro D, Zizka G, Schulte K (2014) Disentangling the effects of key innovations on the diversification of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Evolution* 68: 163-175.
- Smith LB and Down RJ (1974) Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Fl. Neotrop. Monogr.* 14: 1–662.

- Smith LB and Down RJ (1977) Tillandsioideae (Bromeliaceae). Fl. Neotrop. Monogr. 14: 663–1492.
- Smith, LB and Down RJ (1979) Bromelioideae (Bromeliaceae). Fl. Neotrop. Monogr. 14: 1493–2142.
- Smith LB and Till W (1998) Bromeliaceae. In: K. Kubitzki (ed) The families and genera of vascular plants, Springer, Berlin, pp 74–99.
- Sousa LOF, Wendt T, Brown KG, Tuthill ED, Evans MT (2007) Monophyly and Phylogenetic Relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) Based on Morphology and Chloroplast DNA Sequences. Syst Bot 32: 264-270.
- Spat C (2012) Embriologia de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm. (Tillandsioideae-Bromeliaceae). Dissertation. Federal University of Santa Maria, Santa Maria.
- Tobe H (1989) The embryology of angiosperms: Its broad application to the systematic and evolutionary study. Bot. Mag. (Tokyo) 102:351–367.
- Terry RG, Brown GK, Olmstead RG (1997) Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. Amer. J. Bot. 84: 664–670.
- Wee YC, Rao AN (1974) Gametophytes and seed development in pineapple. Curr. Sci. 43:171–173.

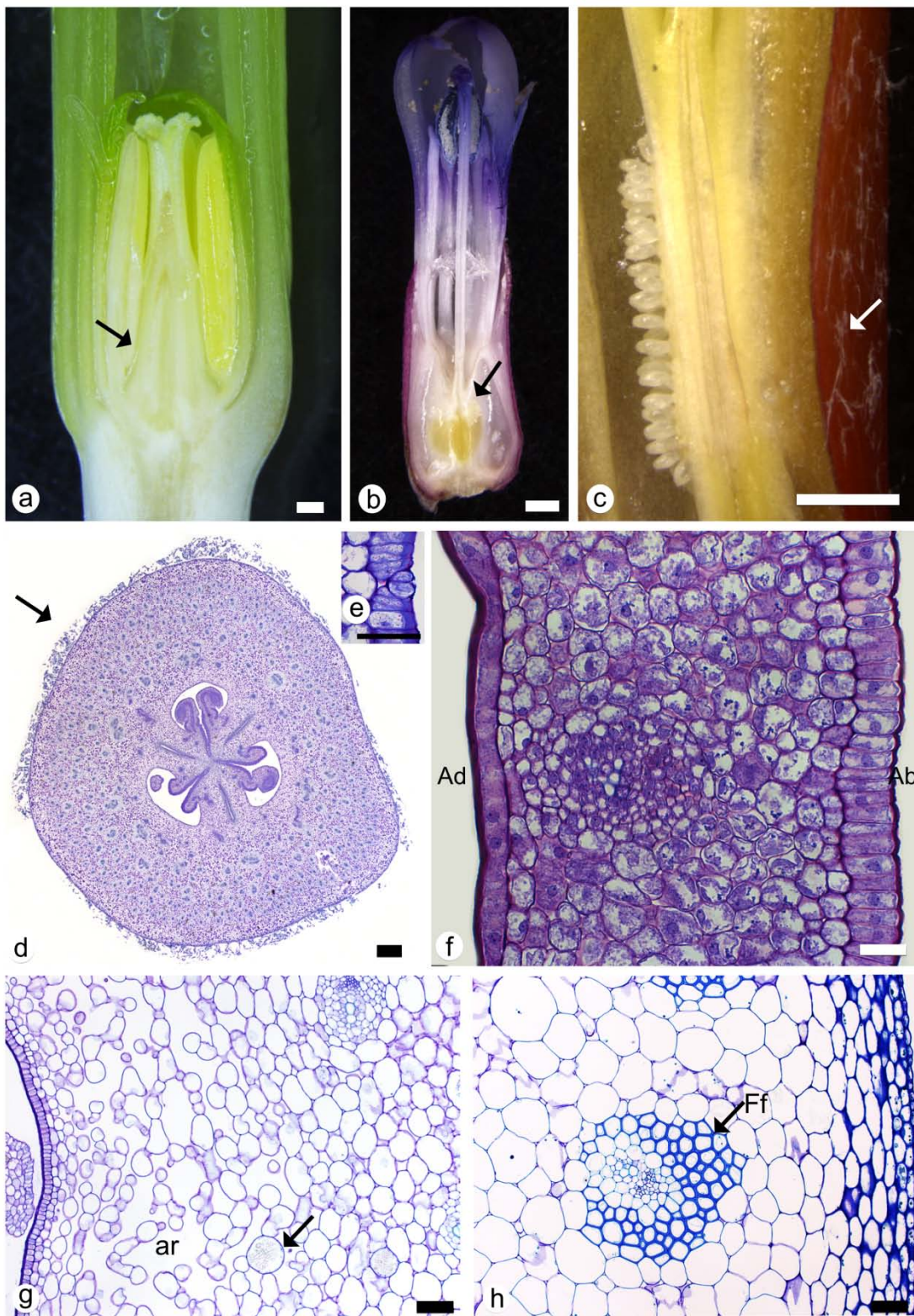


Figura 1. Botão floral em seção longitudinal e ovário em seção transversal. a, botão floral de *Vriesea scalaris* (seta: ovário súpero). b, botão floral de *Aecheamea gamosepala* (seta: indica ovário ínfero). c, detalhe da parede do ovário em *Aecheamea organensis* (seta: indica tricomas epidérmicos). d, ovário de *Bromelia antiacantha* (seta: indica tricomas epidérmicos). e, detalhe da face abaxial da epiderme do ovário em *Puya ferruginea*, mostrando estômato. f, parede do ovário em *Hechtia tillandsioides*. g, detalhe da parede do ovário em *Canistrum pickelli* mostrando aerênquima (seta: indica ráfides). h, detalhe da face abaxial da parede do ovário em *Portea alatisepala* (seta: indica fibras floemáticas). ar, aerênquima; Ff, fibras floemáticas. Barras de escala = 0,5mm (a); 1mm (b-c); 50µm (d,f,g,h); 25µm (e).

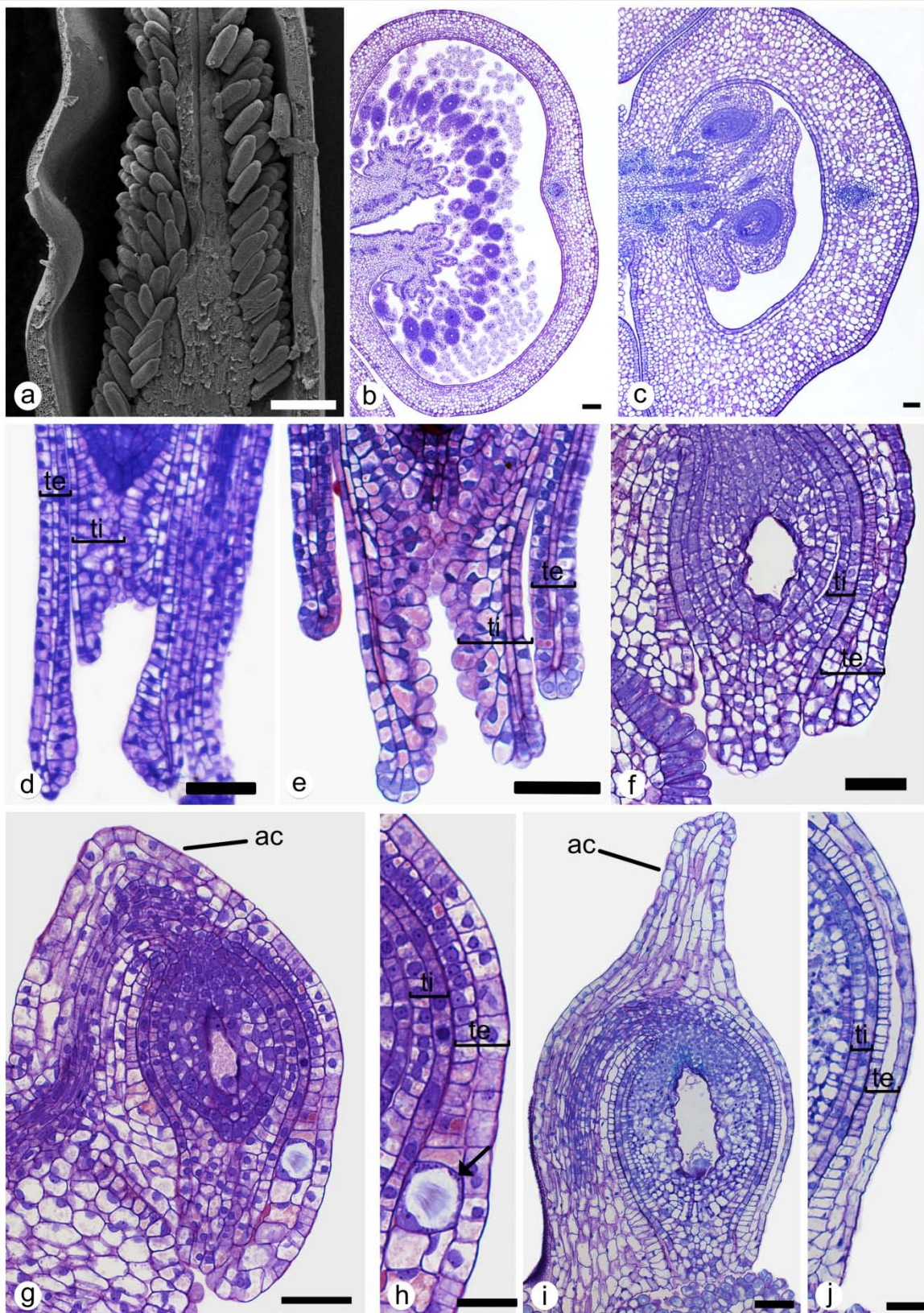


Figura 2. Ovário em seção transversal e longitudinal e rudimento seminal em seção longitudinal. a, vista longitudinal do ovário de *Guzmania rauhiana*. b, detalhe de um lóculo do ovário em *Dyckia velascana*. c, detalhe de um lóculo do ovário em *Pitcairnia tuberculata*. d, detalhe do rudimento seminal em *Vriesea scalaris*. e, detalhe do rudimento seminal em *Tillandsia fasciculata*. f, detalhe do rudimento seminal em *Bromelia antiacantha*. g, rudimento seminal de *Navia lactea*. h, detalhe do rudimento seminal de *Navia lactea*, mostrando os tegumentos (seta: indica ráfide). i, rudimento seminal de *Portea alatisepala*. j, detalhe do rudimento seminal de *P. alatisepala*, mostrando os tegumentos. ac, apêndice calazal; te, tegumento externo; ti, tegumento interno. Barras de escala = 200 μ m (a); 50 μ m (b-g,i); 25 μ m (h, j).

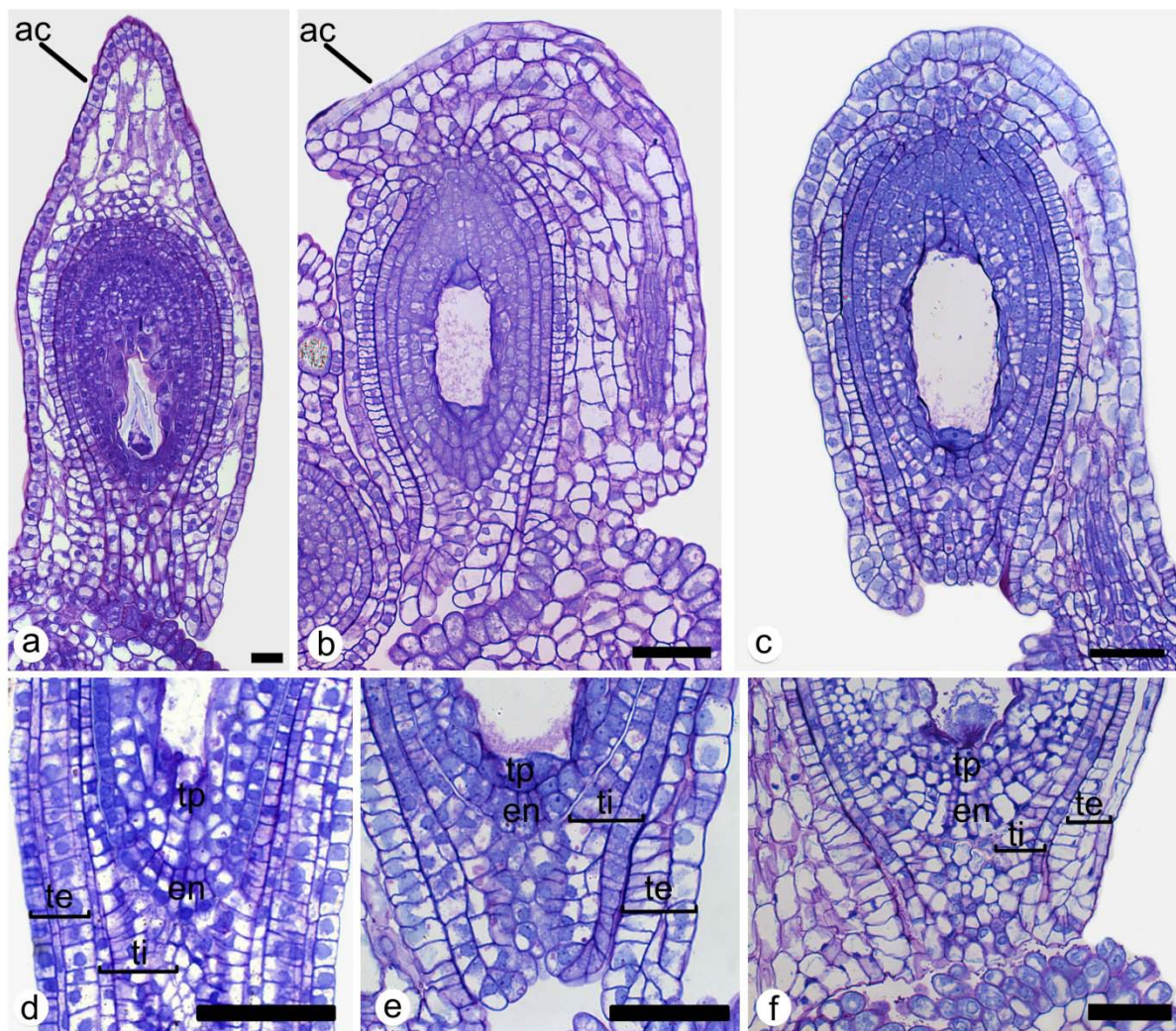


Figura 3. Rudimento seminal em seção longitudinal. a, *Hechtia tillandsioides*. b, *Puya ferruginea*. c, *Quesnelia liboniana*. d, detalhe em *Vriesea scalaris*. e, detalhe em *Quesnelia liboniana*. f, detalhe em *Portea alatisepala*. ac, apêndice calazal; en, epiderme nucelar; te, tegumento externo; ti, tegumento interno; tp, tecido parietal. Barras de escala = 50 μ m.

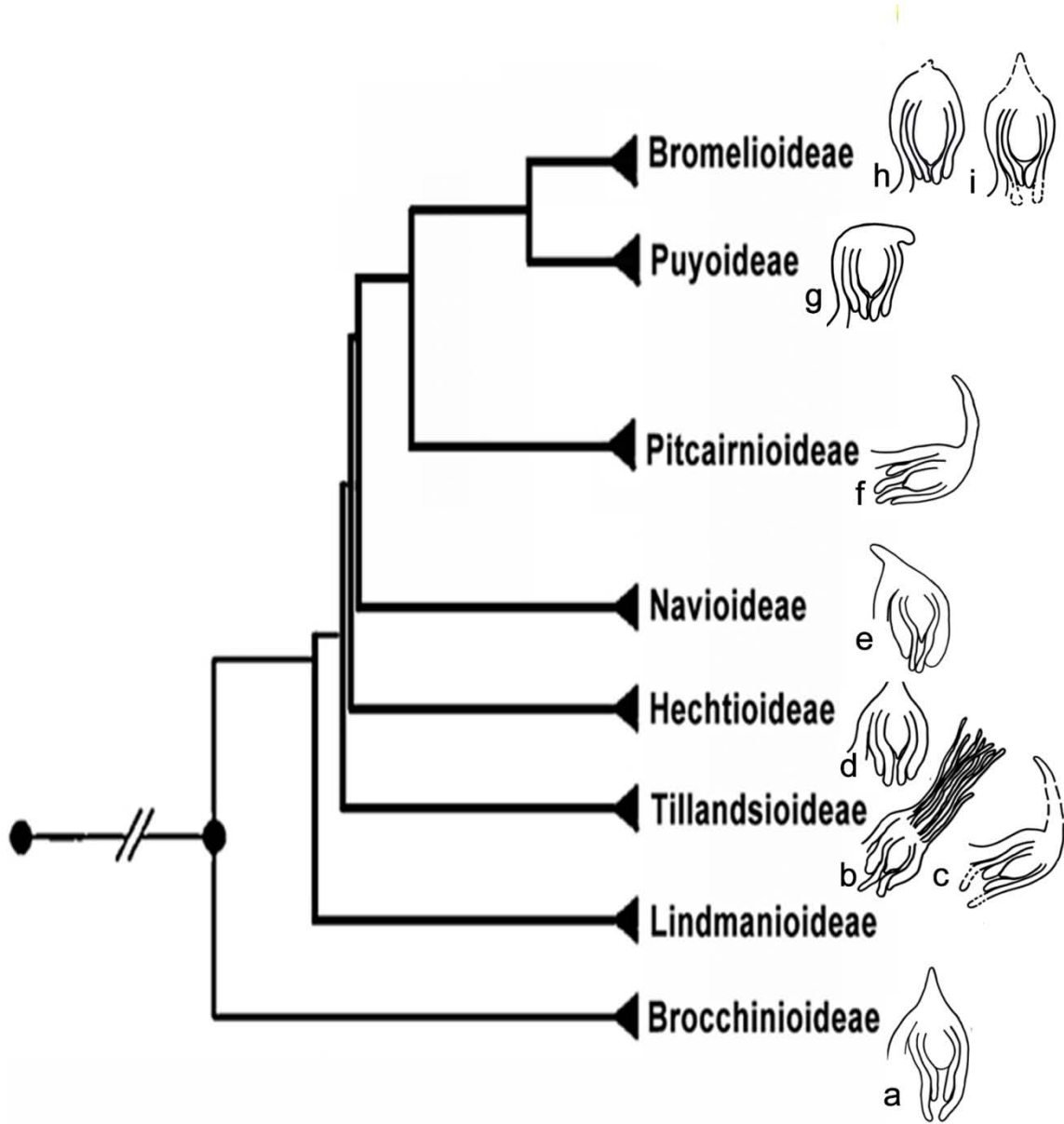


Figura 4: Tendências gerais na evolução do rudimento seminal em Bromeliaceae - baseado na filogenia molecular modificada de Givnish *et al.* (2011). Morfologia do rudimento seminal e variações da morfologia do apêndice calazal e tegumentos observada em: a, Brocchinioideae. b-c, Tillandsioideae (b, gênero *Catopsis*. c, demais gêneros da subfamília). d, Hechtioideae. e, Navioideae. f, Pitcairnioideae. g, Puyoideae. h-i, Bromelioideae. As linhas pontilhadas sugerem que o caráter pode ou não se desenvolver na subfamília.

Tabela 1: Dados sobre o material botânico.

Táxon	País/ Localidade	Número de Registro
Puyoideae		
<i>Puya ferruginea</i> (Ruiz & Pavón) L.B. Sm.	Perú/ Amazonas	MSBG 2007-0158
Navioideae		
<i>Navia lactea</i> L.B. Sm., Steyerl. & H. Rob.	Venezuela/ Amazonas	MSBG 2007-0569
Hechtioideae		
<i>Hechtia tillandsioides</i> (André) L.B. Sm.	México	MSBG 1991-0189
<i>Hechtia epigyna</i> Harms	México	MSBG 2005-0051
Pitcairnioideae		
<i>Pitcairnia megasepala</i> Baker	Costa Rica/ Puntarenas	MSBG 1999-0213
<i>Pitcairnia imbricata</i> (Brongniart) Regel	Belize/ Caio	MSBG 2001-0479
<i>Pitcairnia tuberculata</i> L.B. Sm.	Venezuela/ Nerida	MSBG 2000-0108
<i>Dyckia velascana</i> Mez	Argentina	MSBG 2005-0052
Bromelioideae		
<i>Aechmea orlandiana</i> L.B. Sm.	Brasil/ Espírito Santo	ICN 973
<i>Aechmea organensis</i> Wawra	Brasil/ Paraná	ICN 601
<i>Bromelia antiacantha</i> Bertoloni	Brasil/ Porto Alegre	
<i>Canistrum pickelii</i> (A. Lima & L.B. Sm.) Leme & J.A. Siqueira	Brasil/ Pernambuco	ICN 181209
<i>Cryptanthus acaulis</i> (Lindley) Beer	Brasil/ Rio de Janeiro	MSBG 1983-0059
<i>Neoglaziovia variegata</i> (Arruda da Camara) Mez	Brasil/ Bahia	MSBG 1996-0068
<i>Orthophytum lemei</i> E. Pereira & I.A. Penna	Brasil	MSBG 1990-0678
<i>Portea alatisepala</i> Philcox	Brasil/ Bahia	CV 02561
<i>Quesnelia liboniana</i> (Brongniart) L.B. Sm.	Brasil/ Rio de Janeiro	CV 0541
Tillandsioideae		
<i>Tillandsia fasciculata</i> Swartz	Costa Rica/ São José	MSBG 1990-0682

<i>Guzmania rauhiana</i> H. Luther	República Dominicana	MSBG 1992-0131
	Equador/ Antioquia	MSBG 1998-0217
<i>Vriesea scalaris</i> E. Morren	Brasil/ Rio de Janeiro	MSBG 2001-0018

Tabela 2. Caracteres morfológicos do ovário e do rudimento seminal em Bromeliaceae

Espécies/Caráter	Nº de colunas de rudimento seminal por lóculo	Presença de tricomas na parede do ovário	Presença de estômatos na parede do ovário	Presença de espessamento de colênquima na parede do ovário	Presença de espaços de aeração ou aerênquima no mesófilo do ovário	Orientação do eixo micropilar-calazal do rudimento seminal	Apêndice calazal
Tillandsioideae							
<i>Tillandsia fasciculata</i> Swartz	4	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Oblíquo em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para rafe
<i>Vriesea scalaris</i> E. Morren	8	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Oblíquo em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para rafe
<i>Guzmania rauhiana</i> H. Luther	10	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Oblíquo em relação ao maior eixo do ovário	Ausente
Hechtioidea							
<i>Hechtia epigyna</i> Harms	2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Oblíquo em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para antirafe
<i>Hechtia tillandsioides</i> (André) L.B. Sm.	2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Oblíquo em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para antirafe
Puyoideae							
<i>Puya ferruginea</i> (Ruiz & Pavón) L.B. Sm.	12	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Lateralmente inserido na região da antirafe
Navioideae							
<i>Navia lactea</i> L.B. Sm., Steyererm. & H. Rob.	2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Oblíquo em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para rafe
Pitcairnioideae							
<i>Dyckia velascana</i> Mez	2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para rafe
<i>Pitcairnia imbricata</i> (Brongniart) Regel	12	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para rafe
<i>Pitcairnia megasepala</i> Baker	24	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para rafe
<i>Pitcairnia tuberculata</i> L.B. Sm.	12	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para rafe
Bromelioideae							
<i>Aechmea orlandiana</i> L.B. Sm.	4	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Vestigial

							eixo do ovário	
<i>Aechmea organensis</i> Wawra	6	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Ausente	
<i>Bromelia antiacantha</i> Bertoloni	2	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Vestigial	
<i>Canistrum pickelii</i> (A. Lima & L.B. Sm.) Leme & J.A. Siqueira	6	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Oblíquo em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado	
<i>Cryptanthus acaulis</i> (Lindley) Beer	6	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado com torção para rafe	
<i>Quesnelia liboniana</i> (Brongniart) L.B. Sm.	6	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Vestigial	
<i>Neoglaziovia variegata</i> (Arruda da Camara) Mez	2	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Ausente	
<i>Orthophytum lemei</i> E. Pereira & I.A. Penna	6	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Transversal em relação ao maior eixo do ovário	Vestigial	
<i>Portea alatisepala</i> Philcox	6	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Oblíquo em relação ao maior eixo do ovário	Acumeadado	

Continua

Espécies/Caráter	Tegumento com maior alongamento	Nº camadas completas no tegumento externo	Nº camadas completas no tegumento interno	Presença de rafides no rudimento seminal.	Nº camadas do tecido parietal	Nº camadas da epiderme nucelar	Epiderme nucelar alongada
Tillandsioideae							
<i>Tillandsia fasciculata</i> Swartz	Interno	3	3	Ausente	2	2	Presente
<i>Vriesea scalaris</i> E. Morren	Externo	3	2	Ausente	2	3	Presente
<i>Guzmania rauhiana</i> H. Luther	Interno	3	2	Ausente	2	2	Presente
Hechtioidea							
<i>Hechtia epigyra</i> Harms	Interno	3-4	2-3	Ausente	3	2	Presente

<i>Hechtia tillandsioides</i> (André) L.B. Sm.	Interno	3-4	2	Ausente	3	2	Presente
Puyoideae							
<i>Puya ferruginea</i> (Ruiz & Pavón) L.B. Sm.	Interno	2	2	Presente	2	2	Presente
Navioideae							
<i>Navia lactea</i> L.B. Sm., Steyerem. & H. Rob.	Interno	2	2	Presente	2	1	Presente
Pitcairnioideae							
<i>Dyckia velascana</i> Mez	Interno	3	2	Ausente	1	1	Presente
<i>Pitcairnia imbricata</i> (Brongniart) Regel	Interno	2	2	Ausente	1	1	Presente
<i>Pitcairnia megasepala</i> Baker	Interno	2	2	Ausente	1	1	Presente
<i>Pitcairnia tuberculata</i> L.B. Sm.	Interno	2	2	Ausente	1	1	Presente
Bromelioideae							
<i>Aechmea orlandiana</i> L.B. Sm.	Interno	3	2	Ausente	1	1	Presente
<i>Aechmea organensis</i> Wawra	Interno	3	2	Ausente	1	1	Presente
<i>Bromelia antiacantha</i> Bertoloni	Interno	3-4	2-3	Ausente	2	?	Presente
<i>Canistrum pickelii</i> (A. Lima & L.B. Sm.) Leme & J.A. Siqueira	Externo	2	2	Ausente	2	1	Ausente
<i>Cryptanthus acaulis</i> (Lindley) Beer	Interno	2	2	Ausente	2	1	Presente
<i>Quesnelia liboniana</i> (Brongniart) L.B. Sm.	Interno	3	2	Ausente	1	2	Ausente
<i>Neoglaziovia variegata</i> (Arruda da Camara) Mez	Interno	2	2	Ausente	3	2	Ausente
<i>Orthophytum lemei</i> E. Pereira & I.A. Penna	Externo	2	2	Ausente	2	-	Presente

<i>Portea alatisepala</i> Philcox	Interno	3	2	Ausente	3	3	Ausente
--------------------------------------	---------	---	---	---------	---	---	---------

CAPÍTULO IV

Considerações sobre a morfologia dos estames de espécies pertencentes à

Tillandsioideae (Bromeliaceae)

Resumo

A morfologia externa dos estames de 69 espécies pertencentes a sete gêneros de Tillandsioideae foi descrita através de microscopia fotônica e microscopia eletrônica de varredura com o objetivo de definir diferentes padrões dentro da subfamília. As anteras de Tillandsioideae são tetrasporangiadas, dorsifixas e deiscentes mediante duas fendas longitudinais. A inserção do filete ocorre geralmente na base das anteras, exceto em *Tillandsia* subg. *Tillandsia*. Com relação a morfologia das anteras, essas são lineares em *Vriesea*, *Tillandsia*, *Werauhia* e *Alcantarea*, enquanto que as tecas de *Guzmania* apresentam um afastamento na extremidade basal e em *Racinaea* e *Catopsis* as tecas são estreitas no ápice e largas na base proporcionando um aspecto piriforme. Ainda, o conectivo de *Werauhia* se diferencia dos demais por ser extremamente saliente e robusto e certas espécies de *Vriesea* se distinguem por apresentarem células epidérmicas papilosas. A análise preliminar de aspectos morfológicos dos estames de Tillandsioideae demonstram padrões morfológicos nos diferentes gêneros da subfamília. Dessa forma, os resultados aqui apresentados adicionados a novos dados sobre o androceu, como anatomia das anteras e estratificação da esporoderme do pólen, podem contribuir efetivamente para a taxonomia do grupo.

Palavras-chave: *Alcantarea*, anteras, *Catopsis*, estames, *Guzmania*, *Racinaea*, *Tillandsia*, Tillandsioideae, *Vriesea*, *Werauhia*.

Introdução

Bromeliaceae pertence a um grupo diverso de plantas com flores que se distribui essencialmente nos trópicos e subtropicais das Américas (Smith & Downs, 1974, 1977, 1979). Historicamente, a família apresenta problemas nas relações filogenéticas e circunscrições, no entanto, diversos trabalhos realizados nas últimas décadas tem aumentado o conhecimento sobre a família (Terry, Brown & Olmstead, 1997ab; Horres *et al.*, 2000; Crayn, Winter & Smith, 2004; Barfuss *et al.*, 2005; Givnish *et al.*, 2004, 2007; Sass & Specht, 2010) esclarecendo o posicionamento das subfamílias e dos gêneros de Bromeliaceae. Atualmente a família pertence a Ordem Poales sendo cedo divergente nesse grupo (APG III 2009) compreendendo 8 subfamílias: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Hechtioideae, Navioideae, Tillandsioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae (Givnish *et al.*, 2007, 2011). De acordo com Luther (2014), Bromeliaceae possui 58 gêneros e cerca de 3408 espécies.

Mesmo com o grande progresso na compreensão das relações entre as subfamílias diversas lacunas ainda permanecem. Particularmente, com relação a subfamília Tillandsioideae, os limites genéricos tem sido intensamente discutidos e mudanças nos limites genéricos são frequentes. Tillandsioideae é a maior subfamília de Bromeliaceae e diversos estudos suportam seu monofiletismo (Terry & Brown, 1996; Horres *et al.*, 2000; Crayn *et al.*, 2004; Givnish *et al.*, 2007, 2011; Escobedo-Sarti *et al.*, 2013; Gilmartin & Brown, 1987; Barfuss *et al.*, 2005). De acordo com Luther (2014) a subfamília compreende nove gêneros: *Alcantarea* (36 spp.), *Catopsis* (19 spp.), *Glomeropitcairnia* (2 spp.), *Guzmania* (214 spp.), *Mezobromelia* (9 spp.), *Racinaea* (75 spp.), *Tillandsia* (627 spp.), *Vriesea* (290 spp.) e *Werauhia* (87 spp.). Espejo-Serna

(2002) segrega um novo gênero chamado *Viridantha* a partir de *Tillandsia* subg. *Tillandsia*, no entanto, tal gênero ainda não é completamente aceito. Os gêneros de delimitação mais confusa em Tillandsioideae são *Vriesea*, *Tillandsia*, *Mezobromelia* e *Guzmania*, enquanto *Catopsis* e *Glomeropitcairnia* são claramente delimitados com posição basal na subfamília (Mez, 1934–1935; Smith & Downs, 1977; Till, 2000; Gilmartin *et al.*, 1989; Terry *et al.*, 1997ab; Horres *et al.*, 2000). *Racinea*, *Alcantarea* e *Werauhia* e *Viridantha* são descritos como monofiléticos em análises de Barfuss *et al.* (2005) o qual propôs a classificação da subfamília em quatro tribos: Glomeropitcairneae, Catopsidae, Tillandsieae e Vrieseae.

A principal dificuldade na delimitação dos limites genéricos em Tillandsioideae é devido ao uso de caracteres de questionável utilidade diagnóstica (Brown & Terry, 1992; Grant, 1993; Barfuss *et al.*, 2005) e devido ao fato de que as primeiras obras do tratamento taxonômico se basearam em material desidratado de herbário (Baker, 1889; Mez, 1934-1935; Smith & Downs, 1977) o qual prejudica a análise detalhada da planta e principalmente das estruturas florais.

Caracteres reprodutivos possuem inquestionável potencial em estudos sistemáticos (Maheshwari, 1950; Tobe, 1989; Endress, 2005) sendo observado diversos trabalhos nessa área que proporcionam uma melhor compreensão entre diferentes níveis taxonômicos e ainda fornecem dados adicionais para análise evolutiva de estruturas reprodutivas (Baltazar *et al.*, 2006; De Toni & Mariath, 2010; De Paula & Sajo, 2011).

Mesmo existindo uma vasta bibliografia relacionada a Bromeliaceae, trabalhos que detalham aspectos reprodutivos sempre foram escassos, destacando recentemente os trabalhos focados em estruturas florais, os quais proporcionaram importantes resultados para o grupo (Sajo, Prychid & Rudall, 2004; Sajo *et al.*, 2005; Conceição, De Toni & Costa, 2007; Sartori, 2008; Mendes, Costa & De Toni, 2010; Magalhães & Mariath, 2012; Fagundes & Mariath, 2014;

Nogueira et al., 2015). No entanto, a maioria desses estudos detalha características do gineceu, frutos e sementes, sendo estudos sobre o androceu ainda mais escassos. Além do grande potencial das características polínicas para a taxonomia (Zavada, 1983; Halbritter, 1992), Tobe (1989) descreve onze caracteres presente na antera potencialmente úteis para a delimitação de diversos níveis taxonômicos, e Gardner (1986) salienta a riqueza das características morfológicas da antera em *Tillandsia*, apontando a necessidade de mais estudos com ênfase nas estruturas reprodutivas desse grupo de plantas.

Dessa forma, esse estudo tem o objetivo de descrever características gerais da morfologia da antera de espécies pertencentes a subfamília Tillandsioideae com o intuito de auxiliar na taxonomia do grupo.

Material e métodos

Material Botânico

Para este estudo foram utilizadas 69 espécies pertencentes a 7 gêneros da subfamília Tillandsioideae, Bromeliaceae. O material botânico foi coletado nas seguintes coleções vivas: Coleções viva do Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVeg) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (RS - Brasil), da Fundação Zoobotânica de Porto Alegre (RS - Brasil) e do Jardim Botânico Marie Selby (FL - Estados Unidos da América) sendo a relação das espécies, o local de coleta e o número de registro de cada espécie informados na Tabela 1.

Preparação do material para Microscopia Fotônica

Flores em antese e pré antese foram coletadas, dissecadas e fixadas em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump 1976). Posteriormente os estames foram lavados em tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 7,2) (Gabriel, 1982), analisados e fotomacrografados em

Estereomicroscópio Leica M165FC, equipado com câmera digital Leica DFC 500 e programa de captura de imagens Leica LAS v. 4.1.

Para análise anatômica, após a fixação e lavagem do material em tampão fosfato de sódio, o material foi desidratado em série etílica (10-100%) e incluído em resina hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid, 1983).

Cortes com 4 μ m de espessura foram confeccionados utilizando micrótomo de rotação Zeiss Mikron HM 340 E. Os cortes foram depositados sobre lâminas histológicas e secos em placa aquecedora à 50 °C. Para observação em microscopia fotônica o material foi corado com Azul de Toluidina O 0,05% (O'Brien & McCully, 1981) e a análise e o registro das imagens foram realizados em microscópio Leica DMR-HC, com câmera digital AxionCam HRC Zeiss através do programa de captura de imagens Axionvision SE 64 v. 4.9.1.

Preparação do material para Microscopia Eletrônica de Varredura

Para as análises em microscopia eletrônica de varredura as amostras foram desidratadas em série crescente de acetona e submetidas a secagem pelo método do ponto crítico (Gerstberger & Leins, 1978), utilizando aparelho metalizador da marca BAL-TEC, CPD 030. As amostras foram aderidas a suportes de alumínio e recobertas com ouro utilizando o equipamento BAL-TEC, SCD 050. As observações e o registro eletromicrográfico digital foram realizados em microscópio JEOL 6060, sob 10kV.

Resultados

As anteras das espécies pertencentes a subfamília Tillandsioideae são tetraesporangiadas, deiscentes mediante duas fendas longitudinais e com inserção dorsifixas do filete, sendo a região variável entre os grupos amostrados.

Espécies do gênero *Tillandsia* apresentam anteras delicadas apresentando as paredes das tecas delgadas (Fig. 1a, d). A região de inserção e morfologia do filete varia entre os subgêneros, no entanto, é observado em todas as espécies do gênero, que a inserção dessa estrutura ocorre na face dorsal da antera (Fig. 1b). O conectivo reduzido, que mantém unidas as tecas, pode ser visto em seção transversal (Fig. 1d). A morfologia das extremidades apical e basal da antera apresenta variações no gênero podendo ser arredondadas, obtusas ou agudas.

Espécies pertencentes ao gênero *Tillandsia* subg. *Anoplophytum* possuem anteras que variam de 1 - 2mm de comprimento e de 0,4 - 0,9 mm de largura. As anteras são lineares, sendo a largura do ápice em relação a base semelhante na maioria das espécies (Fig. 1c). A morfologia das extremidades consiste em ápices e bases arredondados ou levemente obtusas (Fig. 1e). O filete está inserido no terço inferior da antera, sendo delgado e achatado (Fig. 2a) e em *Tillandsia stricta* Solander, *Tillandsia winkleri* Strehel, *Tillandsia polzii* Ehlers, *Tillandsia aeranthos* (Loiseleur) L.B. Sm., *Tillandsia tenuifolia* L. são plicados (Fig. 2b).

As espécies pertencentes ao subg. *Allardtia* apresentam anteras lineares com ápice e base agudos (Fig. 2c), o filete se insere no terço inferior da antera, sendo esse delgado e achatado. Em *Tillandsia latifolia* Meyen o filete é plicado. Suas dimensões apresentam 2,5 - 8mm de comprimento e 0,4 - 1,2mm de largura.

Espécies do gênero *Tillandsia* pertencentes ao subg. *Tillandsia* apresentam anteras lineares, sendo o comprimento sempre maior que 2mm chegando a até 6mm e a largura entre 0,7 - 1,3mm. O ápice dessa estrutura é arredondado e a base é sempre aguda (Fig. 2d). O filete apresenta inserção mediana, é cilíndrico e suculento na região de inserção da antera e achatado ao longo de seu comprimento. (Fig. 2e-f). Outra característica comumente observada nesse

subgênero é o prolongamento do conectivo sobre a região apical das tecas formando uma protuberância terminal (Fig. 2d).

Em espécies do gênero *Tillandsia* pertencentes ao subg. *Phytarryza* a maioria das espécies apresentam anteras com ápice arredondado e base arredondada ou aguda, a inserção do filete é no terço inferior da antera, sendo esse cilíndrico e de aspecto suculento na região de inserção da antera e achatado ao longo de seu comprimento. Apenas *Tillandsia dodsonii* L.B. Sm. apresenta filete achatado e fusionados ao das demais anteras da flor (Fig. 3a). O comprimento das anteras varia de 2,5 - 8,2 mm e a largura varia de 0,5 - 1,1mm. O prolongamento do conectivo sobre a região apical das tecas também é comum nesse grupo formando uma protuberância terminal.

Tillandsia usneoides foi a única espécie do subg. *Diaphoranthema* analisada apresentando inserção basal do filete, sendo delgado e achatado. As anteras apresentam extremidades arredondadas e dimensões de 2,5mm de comprimento e 0,5mm de largura.

No gênero *Guzmania* as espécies apresentam anteras com extremidades agudas, ocorrendo uma afastamento entre as duas tecas na extremidade basal. Na maioria das espécies, esse afastamento é sutil (Fig. 3b), no entanto em *Guzmania melinonis* Regel, *Guzmania monostachia* (L.) Ruby ex Mez, *Guzmania sanguinea* (André) André ex Mez e em *Guzmania remya* L.B. Smith é muito pronunciado (Fig. 3c). O padrão descrito anteriormente se diferencia apenas em *Guzmania herrerae* H. Luther & W.J. Kress e *Guzmania sprucei* L.B. Smith, onde o ápice da antera é arredondado (Fig. 3d). Com relação ao filete, se observou duas morfologias. A mais frequente é um filete amplo e achatado ao longo de todo seu comprimento, exceto na extremidade de ligação com a antera, onde este é estreito, ocorrendo uma inserção pontual, no terço inferior da antera (Fig. 3e). Diferentemente, nas espécies que apresentam as extremidades das tecas com afastamento pronunciado, o filete é amplo ao longo de todo seu comprimento,

inclusive na região de inserção (Fig. 3f). *Guzmania alcantareoides* H. Luther se diferencia das demais por apresentar filete de formato cilíndrico (Fig. 3g, h). O comprimento das anteras varia de 2,3 - 6,5mm e a largura varia de 0,6 - 1,5mm.

Nos gêneros *Racinaea* e *Catopsis* a morfologia da antera tende a ser piriforme (Fig. 3i). O ápice da antera é sempre acuminado e as tecas são mais estreitas nessa região; na base as tecas são mais largas e as extremidades podem ser arredondadas como em *Catopsis*; ou mucronadas, como em *Racinaea*. O filete se insere no terço inferior da antera, sendo achatado e de aspecto suculento. O comprimento da antera de *Racinaea* é de 1,5mm de comprimento e 1mm de largura em sua região mediana e em *Catopsis* apresenta 1,8mm de comprimento e 0,6mm de largura na região mediana da antera.

Os gênero *Werauhia* possui anteras lineares (Fig. 3j). A principal característica dessa estrutura no gênero é a presença do filete de inserção no terço inferior da antera e conectivo de aspecto robusto e coloração escura que se prolonga até o ápice da antera (Fig. 3k). As dimensões da antera observadas foram 5mm de comprimento e 1,5mm de largura em *Werauhia marnier-lapostolei* (L.B. Sm.) J.R. Grant e 10,1mm de comprimento e 3,5mm de largura em *Werauhia gladioliflora* (H. Wendland) J.R. Grant.

No gênero *Vriesea* dois padrões de morfologia de antera são observados. No primeiro, definido como Tipo I, se observa anteras lineares, estando as duas tecas totalmente paralelas ao longo de toda a sua extensão (Fig. 4a) e o ápice e a base são arredondados. Nesse tipo de estame o filete é bastante saliente, de inserção no terço inferior da antera e aspecto cilíndrico (Fig. 4b). A presença de células com papilas conspícuas nesse grupo também é amplamente observada (Fig. 4c, d). Esse padrão é observado nas seguintes espécies: *Vriesea psittacina* (Hooker) Lindley, *Vriesea laxa* Mez, *Vriesea weberi* E. Pereira & I.A. Penna, *Vriesea barilletii* E. Morren,

Vriesea flava A.F. Costa, H. Luther & Wand., *Vriesea scalaris* E. Morren, *Vriesea simplex* (Vellozo) Beer, *Vriesea guttata* Linden & André e *Vriesea bleherae* Röth & W. Weber. As duas últimas espécies citadas não apresentam papilas. No segundo padrão, definido como Tipo II, as anteras tem um aspecto geral semelhante às de *Tillandsia*, sendo essas mais estreitas (Fig. 4e). Na base da antera as tecas sofrem um leve afastamento, sendo o ápice arredondado e a base aguda. O filete possui inserção mediana na antera e apresenta formato cilíndrico (Fig. 4f). As espécies incluídas nesse grupo são: *Vriesea chrysostachys* E. Morren, *Vriesea minuta* Leme, *Vriesea rubra* (Ruiz & Pavón) Beer, *Vriesea spinosae* (L.B. Sm.) Gilmartin, *Vriesea drepanocarpa* (Baker) Mez e *Vriesea barclayana* (Baker) L.B. Sm. As dimensões das anteras do gênero *Vriesea* variam de 10 - 4mm de comprimento e 1 - 2mm de largura.

Por fim a espécie amostrada do gênero *Alcantarea* apresenta antera muito longa, com dimensões de 10,3mm de comprimento e 0,3mm de largura (Fig. 4g). O ápice da antera possui morfologia arredondada e a base arredondada a aguda, sendo as duas tecas afastadas nessa extremidade (Fig. 4g, h). O filete tem inserção quase basal e formato cilíndrico.

Considerações finais sobre a morfologia da antera em Tillandsioideae

Apesar do papel fundamental dos estames no ciclo reprodutivo das plantas com flores e sua importância para a interpretação da evolução desse grupo vegetal, pouca atenção tem sido dedicada ao estudo dessa estrutura (D' Arcy & Keating, 1996) e de acordo com Gardner (1986) estames são estruturas repletas de características morfológicas úteis para a distinção de grupos botânicos.

Com relação ao gênero *Tillandsia* poucas características parecem auxiliar na taxonomia de seus subgêneros. No entanto em *Tillandsia* subg. *Tillandsia*, o posicionamento e a morfologia do filete e as características da antera delimitam de forma clara as espécies analisadas. Em um

amplo estudos feito a partir de representantes do subg. *Tillandsia* e *Allardtia*, Gardner (1986) subdivide o primeiro subgênero citado em cinco grupos. De dez espécies pertencentes ao subg. *Tillandsia*, representadas nesse estudo, sete delas também foram amostradas por Gardner (1986) e posicionadas no grupo I, o qual é definido por possui filete achatado com ápice arredondado e inserção mediana, corroborando os nossos dados para o subgênero. Com relação ao subg. *Phytarrhiza* os resultados apresentados nesse trabalho apontam que este se diferencia do subg. *Tillandsia* apenas pela inserção basal do filete na antera. Ainda os estames do subg. *Tillandsia* demonstram morfologia constante em todas as espécies. Com relação aos subgêneros *Diaphorantema*, *Allardtia* e *Anoplophytum* estes se assemelham muito, exceto pela presença de filetes plicados em diversas espécies nos dois últimos subgêneros citados. Os estames plicados em *Tillandsia* subg. *Allardtia* e *Anoplophytum* foram apontados como um estado de caráter de grande valor taxonômico na delimitação de ambos os subgêneros (Smith & Downs, 1977), no entanto, segundo Evans & Brown (1989) essas estruturas se desenvolvem tardiamente na ontogenia, sendo portanto, inapropriado para a delimitação dos subgêneros.

Espécies do gênero *Racinaea* foram primeiramente descritas como *Tillandsia* subg. *Pseudo-catopsis*; o nome do subgênero fazia referência a semelhança de suas flores com as do gênero *Catopsis*. O status de gênero de *Racinaea* foi estabelecido por Spencer e Smith (1993), devido a evidências florais do subgênero que as distinguem das demais espécies de *Tillandsia*; como flores pequenas, dísticas e pouco chamativas, pétalas assimétricas e livres que se ampliam em direção ao ápice, estames e pistilos incluídos na corola e estigma curto e largo. Dessa forma, a morfologia piriforme dos estames compartilhada por *Racinaea* e *Catopsis* e distinta das demais espécies de *Tillandsia* é mais um caráter que suporta o status de *Racinaea*. A morfologia dos estames diferenciada nesses dois gêneros também foi salientada no trabalho de Till (2000), que

descreve estames ovóides em *Racinaea* e por Martínez-Correa, Espejo-Sena & López-Ferrari (2014) que aponta a morfologia triangular dos estames de *Catopsis occulta* Mart.-Correa, Espejo & López-Ferr.

Em *Guzmania* os dados morfológicos da antera apresentados no presente estudo corroboram os dados moleculares, uma vez que *G. melinonis* e *G. monostachia*, espécies que apresentam extremidade basal das anteras extremamente afastadas, se posicionam em um clado com forte suporte e cedo divergente dentro do gênero e *G. herrerae*, *G. musaica* e *G. wittmackii* se posicionam em um clado de divergência posterior (Barfuss *et al.*, 2005), e apresentam extremidade basal das anteras com afastamento sutil.

Com relação a *Werauhia* e *Alcantarea*, poucas informações se encontram com relação à morfologia de suas anteras, no entanto Till (2000), faz inferência sobre a presença de um conectivo maciço em *Werauhia* reforçando o peso desse caráter.

No gênero *Vriesea* dois morfotipos de antera foram observados e as três espécies pertencentes a seção Xiphion amostradas, apresentam anteras do Tipo 1. Assim, é interessante salientar que embora as duas seções de *Vriesea* não sejam reconhecidas como grupos naturais (Costa *et al.*, 2015), diversos complexos de espécies são sugeridos e revisados dentro de *Vriesea* (Costa, Rodrigues & Wanderley, 2009; Gomes-da-Silva & Costa, 2011; Versieux, 2011; Moura & Costa, 2014) e dessa forma características da antera, devem ser investigadas mais profundamente, e em um maior número de amostras, para poderem auxiliar na circunscrição do gênero.

Os resultados aqui apresentados conferem um panorama geral e preliminar no detalhamento da estrutura do androceu em Tillandsioideae, no entanto dados adicionais sobre

anatomia da antera e morfologia e estratificação da esporoderme do pólen devem ser gerados para auxiliar na definição de padrões específicos da subfamília.

Referências bibliográficas

- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 122-127.
- Balthazar M, Schönenberger J, Aversion WS, Janka H, Bayer C, Baum DA. 2006. Structure and evolution of the androecium in the Malvatheca clade (Malvaceae s.l.) and implications for Malvaceae and Malvales. *Plant Systematic and Evolution* 260: 171-197.
- Baker JG. 1889. *Handbook of the Bromeliaceae*. London: George Bell and Sons.
- Barfuss MHJ, Samuel R, Till W, Stuessy TF. 2005. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on dna sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany* 92: 337-351. Brown & terry, 1992;
- Conceição S, De Toni KLG, Costa CG. 2007. Particularidades do nucelo de *Dyckia pseudococcinea* L.B. Smith (Bromeliaceae). *Revista Brasileira Biosciencias* 5:846–848.
- Costa AF, Rodrigues PJ, Wanderley MG. 2009. Morphometric analysis and taxonomic revision of the *Vriesea paraibica* complex (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 159:163–181.
- Crayn MD, Winter K, Smith AC. 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the neotropical family Bromeliaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101: 3703-3708.
- D’Arcy WG, Keating RC. 1996. *The anther form, function and phylogeny*. Cambridge: The University Press.

- De Paula OC, Sajo MG. 2011. Morphology and development of anthers and ovules in *Croton* and *Astraea* (Euphorbiaceae). *Nordic Journal of Botany* 29: 505-511.
- De Toni KLG, Mariath JEA. 2010. Ovule ontogeny of *Relbunium* species in the evolutionary context of Rubiaceae. *Australian Journal of Botany* 58:70-79.
- Endress PK. 2005. Links between embryology and floral evolutionary morphology. *Current Science* 89: 749-754.
- Escobedo-Sarti J, Ramirez I, Leopardi C, Carnevali G, Magellan S, Duno R, Mondragón D. 2013. A phylogeny of Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) derived from an evaluation of nine supertree methods. *Journal of Systematics and Evolution* 51 (6):744-757.
- Espejo-Serna A. 2002. *Viridantha*, un género nuevo de Bromeliaceae (Tillandsioideae) endémico de México. *Acta Botánica Mexicana* 60: 25-35.
- Evans TM, Brown GK. 1989. Plicate Staminal Filaments in *Tillandsia* Subgenus *Anoplophytum* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany* 76: 1478-1485.
- Fagundes NF, Mariath JEA. 2014. Ovule ontogeny in *Billbergia nutans* in the evolutionary context of Bromeliaceae (Poales). *Plant Systematics and Evolution* 300: 1323-1336.
- Gabriel BL 1982. *Biological electron microscopy*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Gardner CS. 1986. Preliminary classification of *Tillandsia* based on floral characteres. *Selbyana*.9:130-146.
- Gerrits PO; Smid L. 1983. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132: 81-85.

- Gersterberger P, Leins P. 1978. Rasterelektronmikroskopische untersuchungen an blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae). Anwendung einer neuen präparations methode. *Berichete der Deutschen Botanischen Gasellschaft* 91: 381-387.
- Gilmartin AJ, Brown GK. 1987. Bromeliales, related Monocots, and resolution of relationships among Bromeliaceae subfamilies. *Systematic Botany* 12 (4): 493–500.
- Gilmartin AJ; Brown GK; Varadarajan GS, Neighbors, N. 1989. Status of *Glomeropitcairnia* within evolutionary history of Bromeliaceae. *Systematic Botany* 14: 339–348.
- Givnish TJ, Millam KC, Evans TM, Hall JC, Pires JC, Berry PE, Sytsma KJ. 2004. Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunction in Rapateaceae and Bromeliaceae based on ndhF sequence data. *International Journal of Plant Science* 165: 35–54.
- Givnish TJ, Millam KC, Berry PE, Sytsma KJ. 2007. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. *Aliso* 23: 3-26.
- Givnish TJ, Barfuss MHJ, Van Ee B, Riina R, Schulte K, Horres R, Gonsiska PA, Jabaily RS, Crayn DM, Smith AC, Winter K, Brown GK, Evans TM, Holst BK, Luther H, Till W, Zizka G, Berry PE, Sytsma KJ. 2011. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from na eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany* 98: 1-24.
- Gomes-da-Silva J, Costa AF. 2011. A Taxonomic Revision of *Vriesea corcovadensis* Group (Bromeliaceae: Tillandsioideae) with Description of Two New Species. *Systematic Botany*, 36(2):291-309.
- Grant JR. 1993. True tillandsias misplaced in *Vriesea* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Phytologia* 75: 170- 175.

- Halbritter H. 1992. Morphologie und systematische Bedeutung des Pollens der Bromeliaceae. *Grana* 31 (3) 197:212.
- Horres R, Zizka G, Kahl G, Weising K. 2000. Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: Evidence from trnL (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. *Plant Biology* 2: 306–315.
- Luther HE. 2014. *An alphabetical list of Bromeliad binomials*. Florida: Marie Selby Botanical Gardens and Bromeliad Society International.
- Magalhães RI, Mariath JEA. 2012. Seed morphoanatomy and its systematic relevance to Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution* 298:1881–1895.
- Maheshwari P. 1950. *An introduction to the embryology of angiosperms*. New York:McGraw-Hill.
- Martínez-Correa N, Espejo-Serna A, López-Ferrari A. 2014. Una nueva especie de *Catopsis* (Bromeliaceae, Tillandsioideae, Catopsidae) de México. *Acta Botanica Mexicana* 106: 129-147.
- McDowell EM, Trump BR. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 100: 405-414.
- Mendes SP, Costa CG, De Toni KLG. 2010. Embryo development of *Dyckia pseudococcinea* (Pitcairnioideae-Bromeliaceae), an endangered Brazilian species. *Australian Journal of Botany* 58: 485-492.
- Mez C. 1934-35. Bromeliaceae. In: Engler A. *Das pflanzenreich*. Stuttgart: Heft 100, 1-667.
- Moura RL, Costa AF. 2014. Taxonomic Notes on *Vriesea* Sect. *Xiphion* (Bromeliaceae) with Descriptions of Three New Species. *Systematic Botany* 39(3):791-803.

- Nogueira FM, Fagundes NF, Kuhn SA, Fregonezi jN, Mariath JEA. 2015. Ovary and ovule anatomy in the Nidularioid complex and its taxonomic utility (Bromelioideae-Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 177 (1): 66-77.
- O'Brien TP, McCully ME. 1981. *The study of plant structure - principles and selected methods*. Melbourne: Termarcarphi Pty.
- Sajo MG, Prychid CJ, Rudall PJ. 2004. Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. *Kew Bulletin* 59: 261-267.
- Sajo MG, Furness CA, Prychid CJ, Rudall PJ. 2005. Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. *Grana* 44: 65-74.
- Sartori JS. 2008. *Desenvolvimento floral em Vriesea carinata Wawra (Tillandsioideae–Bromeliaceae)*. Unpublished D. Phil. Thesis. Federal University of Rio Grande do Sul.
- Sass C, Specht CD. 2010. Phylogenetic estimation of the core bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 559–571.
- Smith LB, Downs RJ. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). In: Zanoni T, ed. *Flora Neotropica Monograph*. New York: Hafner Press, 1-662
- Smith LB, Downs RJ. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). In: Zanoni T, ed. *Flora Neotropica Monograph*. New York: Hafner Press, 663- 1492.
- Smith LB, Downs RJ. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae). In: Zanoni T, ed. *Flora Neotropica Monograph*. New York: Hafner Press, 1493-2142.
- Spencer MA, Smith LB. 1993. *Racinaea*, a new genus of Bromeliaceae (Tillandsioideae). *Phytologia* 74(2): 151-160.

- Terry RG, Brown GK. 1996. A study of evolutionary relationships in Bromeliaceae based on comparison of DNA sequences from the chloroplast gene *ndhF*. *Journal of Bromeliad Society* 46: 107-112.
- Terry RG, Brown GK, Olmstead RG. 1997a. Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. *American Journal of Botany* 84: 664–670.
- Terry RG, Brown GK, Olmstead RG. 1997b. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) using *ndhF* Sequences. *Systematic Botany* 22 (2): 333–345.
- Till W. 2000. Tillandsioidea. In Benzing DH ed. *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Tobe H. 1989. The embryology of angiosperms: Its broad application to the systematic and evolutionary study. *Botanical Magazine Tokyo* 102:351–367.
- Versieux L. 2011. Brazilian plants urgently needing conservation: the case of *Vriesea minarum* (Bromeliaceae). *Phytotaxa* 28: 35–49.
- Zavada MS. 1983. Comparative Morphology of Monocot Pollen and Evolutionary Trends of Apertures and Wall Structures. *The Botanical Review* 49 (4): 333-379.

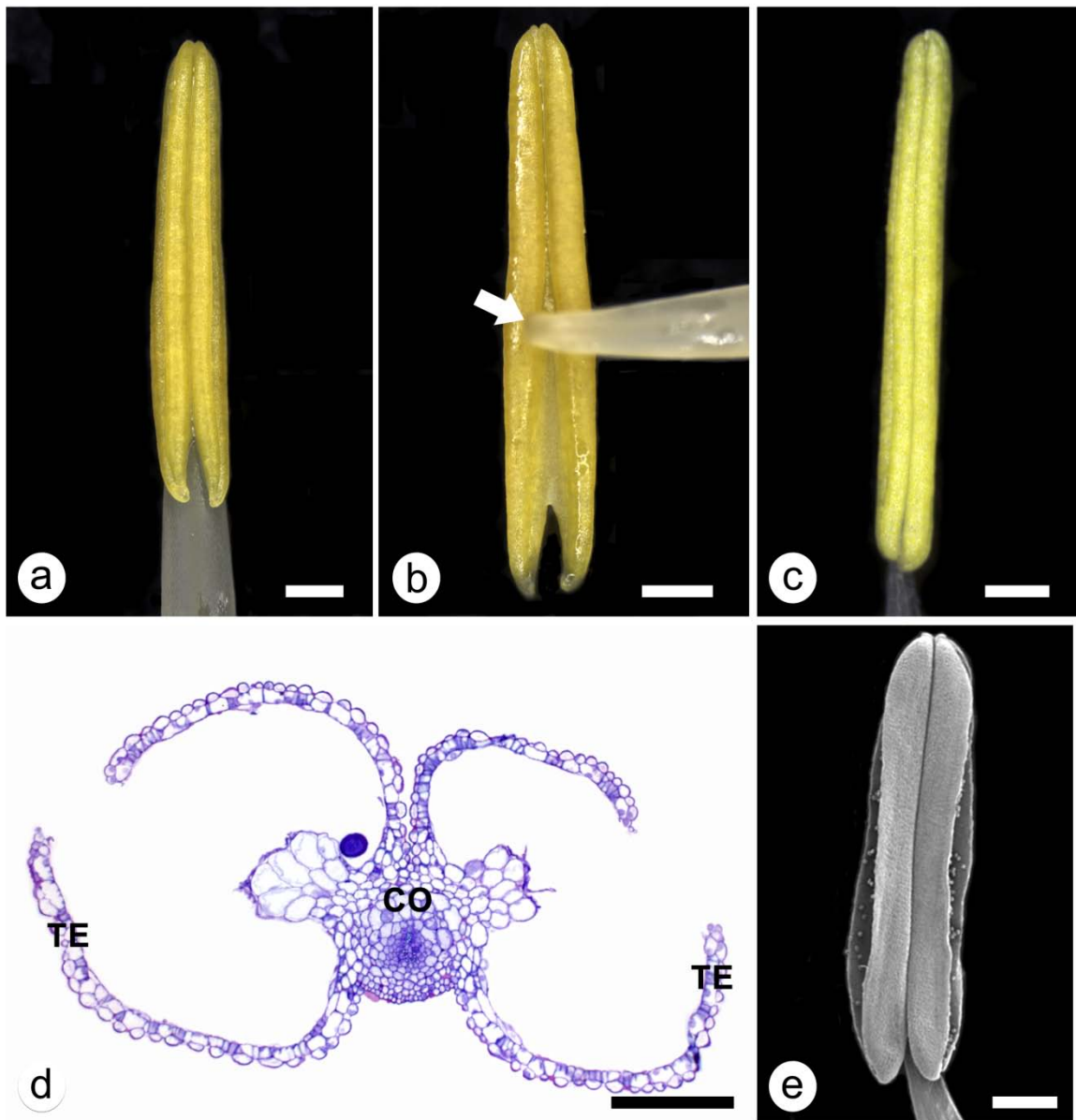


Figura 1. Estames de Tillandsioideae em vista da face ventral e dorsal e em corte anatômico. (a, b) estame de *T. simulata* em vista da face ventral (a) e dorsal (b). (c) *T. polzii*, estame em vista da face ventral. (d, e) *T. winkleri*. Corte transversal anatômico das anteras (d), vista da face ventral (e). Barras de escalas: (a-c) 0,5 mm; (d, e) 500 μ m. Legenda: (CO) conetivo; (TE) arcos das tecas; (seta) região de inserção do filete.



Figura 2. Estames de Tillandsioideae em vista da face ventral, dorsal e lateral. (a) estame de *T. springeliana* em vista da face ventral. (b) estames de *T. stricta* em vista lateral evidenciando o filete plicado. (c) estames de *T. vernicosa* em vista da face ventral. (d) estames de *T. hammeri* em vista da face ventral. (e, f) estames de *T. baileyi* em vista da face ventral (e) e dorsal (f). Barras de escalas: (a-f) 0,5 mm. Legenda: (seta) região de inserção do filete; (cabeça de seta) filete plicado; (CO) conetivo.

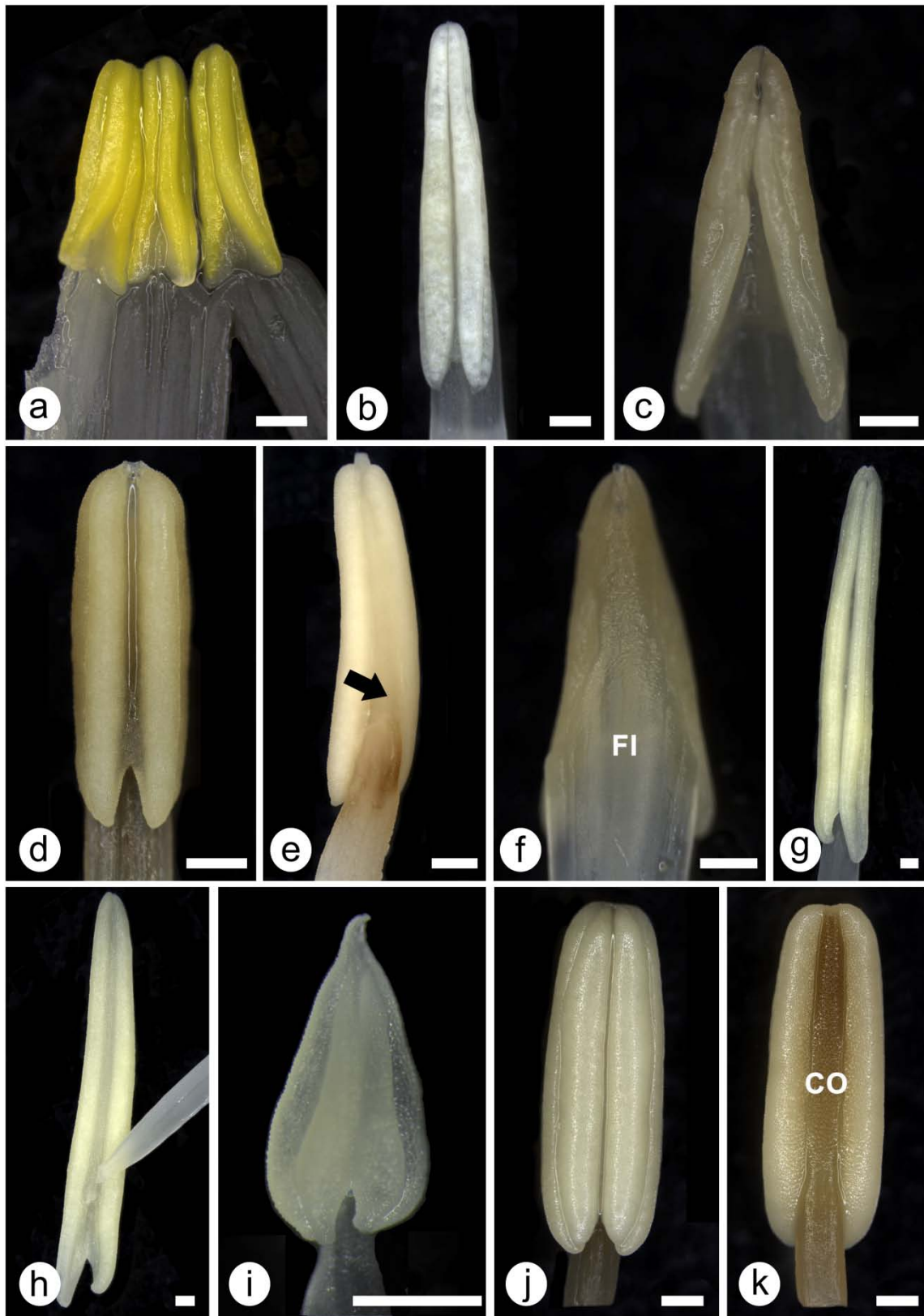


Figura 3. Estames de Tillandsioideae em vista da face ventral e dorsal. (a) estames de *T. dodsonii* em vista da face ventral. (b) estames de *G. wittmakii* em vista da face ventral. (c) estames de *G. melinonis* em vista da face ventral. (d) estames de *G. herrerae* em vista da face ventral. (e) estames de *G. floetida* em vista da face dorsal. (f) estames de *G. melinonis* em vista da face dorsal. (g, h) estames de *G. alcantareoides* em vista da face ventral (g) e dorsal (h). (i) estames de *R. spiculosa* em em vista da face ventral. (j, k) estames de *W. marnier-lapostollei* em vista da face ventral (j) e dorsal (k). Barras de escalas: (a-k) 0,5 mm. Legenda: (seta) região de inserção do filete; (FI) filete; (CO) conetivo.

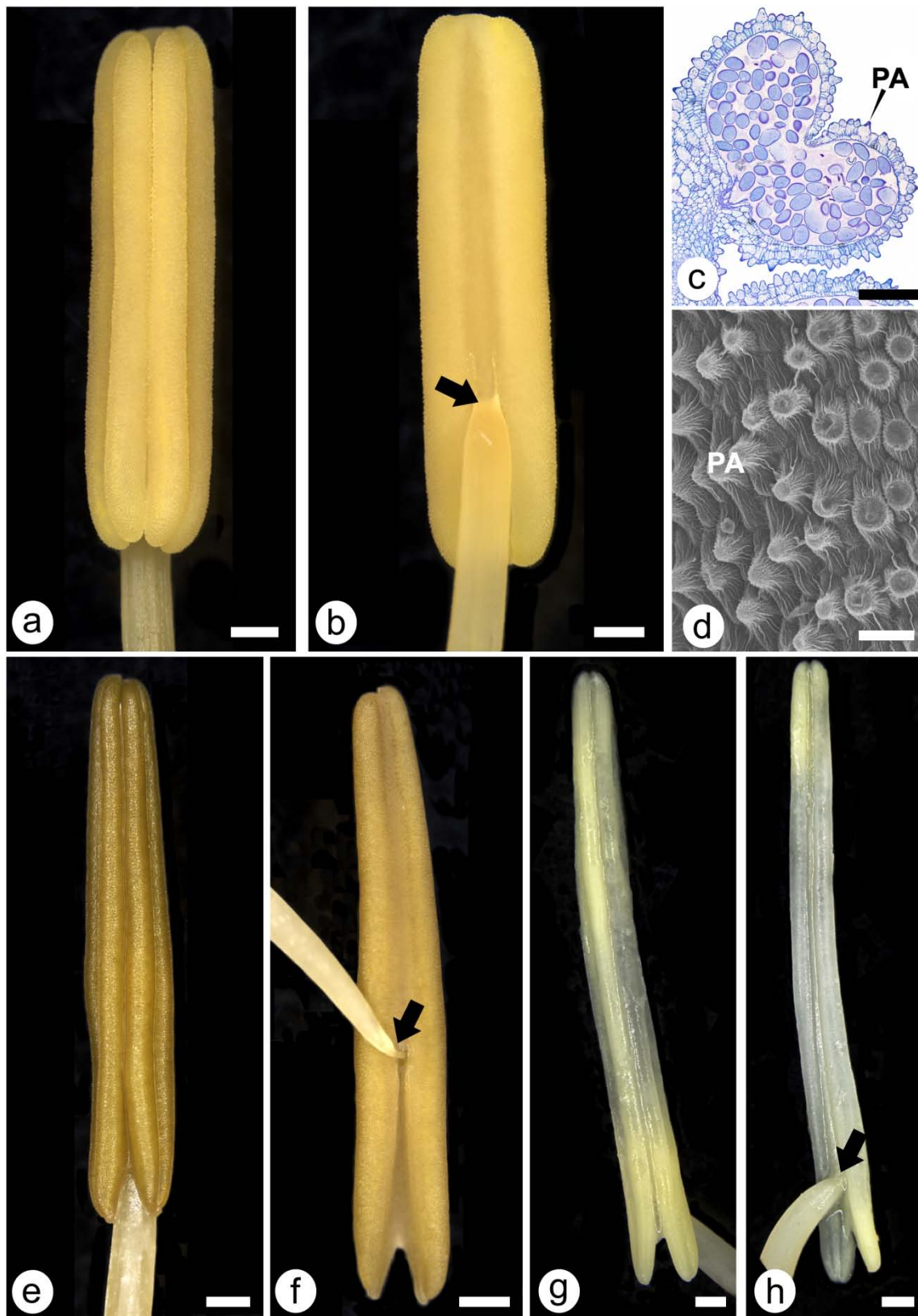


Figura 4. Estames de Tillandsioideae em vista da face ventral e dorsal e em corte anatômico. (a, b) estames de *V. simplex* em vista da face ventral (a) e dorsal (b). (c, d) detalhe da antera de *V. flava* evidenciando a morfologia das células epidérmicas em corte anatômico transversal (c) e em microscopia eletrônica de varredura (d). (e, f) estames de *V. barclayana* em vista da face ventral (e) e dorsal (f). (g, h) estames de *A. simplicisticha* em vista da face ventral (g) e dorsal (h). Barras de escalas: (a, b, e, f,) 0,5 mm; (c) 200 μ m; (d) 50 μ m; (g, h) 1mm. Legenda: (seta) região de inserção do filete; (PA) papilas.

Table 1: Gêneros e espécies de Tillandsioideae estudados e seus números de registro.

Táxon	País/Local	Número de Registro
<i>Alcantarea</i>		
<i>A. simplicisticha</i> Leme & A.P. Fontana	Brasil	MSBG 2009-0639
<i>Catopsis</i>		
<i>C. berteroniana</i> (Schult. f.) Mez	Guiana Francesa	MSBG 2008-0504
<i>C. morreniana</i> Mez	Guatemala/ Petén	MSBG 1981-0230
	Honduras	MSBG 1975-0037-037
<i>C. nutans</i> L.B. Sm.	Honduras	MSBG 1976-0020-005
	Costa Rica/ São José	MSBG 1991-0312
<i>Guzmania</i>		
<i>G. melinonis</i> Regel	Equador/ Pastaza	MSBG 1986-0325
<i>G. alcantareoides</i> H. Luther	Equador/ Zamora-Chinchipe	MSBG 1990-0858
<i>G. cerrohoyaensis</i> H. Luther	Panamá/ Veraguas	MSBG 2002-0060
<i>G. ferruginea</i> H. Luther	Equador/ Zamora Chinchipe	MSBG 2007-0212
<i>G. foetida</i> Rauh	Equador/ Pastaza	MSBG 1986-0330
<i>G. lingulata</i> (L.) Mez	Panamá	MSBG 1999-0141
<i>G. macropoda</i> L.B. Sm.	Panamá	MSBG 1995-0301
<i>G. monostachia</i> (L.) Rusby ex Mez	República Dominicana	MSBG 1998-0075
<i>G. musaica</i> (Linden & André) Mez	Colômbia/ Choco	MSBG 2002-0069
<i>G. herrerae</i> H. Luther & W.J. Kress	Costa Rica/ Alejuela	MSBG 1992-0041
<i>G. remyia</i> L.B. Smith	Equador/ Pichincha	MSBG 1990-0857
<i>G. sanguinea</i> (André) André ex Mez	Equador/ Manabí	MSBG 1995-0321
<i>G. sprucei</i> (André) L.B. Sm.	Panamá	MSBG 1988-0141
<i>G. subcorymbosa</i> L.B. Sm.	Costa Rica/ Alajuela	MSBG 1990-0698
<i>G. variegata</i> L.B. Sm.	Equador/ El Oro	MSBG 1999-0178
<i>G. zahnii</i> (Hooker f.) Mez	Costa Rica/ Puntarenas	MSBG 1980-0675

<i>G. wittmackii</i> (André) André ex Mez	Equador/ El Oro	MSBG 1981-2398
	Equador/ Pichincha	MSBG 1980-0527
	Equador/ Napo	MSBG 1995-0317

Racinaea

<i>R. spiculosa</i> (Griseb.) M.A. Spencer & L.B. Sm.	Brasil/ São Paulo	ICN 187143
---	-------------------	------------

Tillandsia subg. Anoplophytum

<i>T. aeranthos</i> (Loiseleur) L.B. Sm.	Brasil/ Rio Grande do Sul	ICN 179139
	Brasil/ Rio Grande do Sul	ICN 179140
<i>T. geminiflora</i> Brongniart	Brasil/ Rio Grande do Sul	BROM 00395
	Brasil/ Rio Grande do Sul	BROM 00176
<i>T. neglecta</i> E. Pereira	Brasil/ Rio de Janeiro	MSBG 1988-0264
<i>T. polzii</i> Ehlers	Argentina	MSBG 1985-1886
<i>T. sprengeliana</i> Klotzsch ex Mez	Brasil/ Rio de Janeiro	MSBG 19930406
<i>T. stricta</i> Solander	Brasil/ Rio Grande do Sul	MSBG 1984-0466
	Brasil/ Rio Grande do Sul	ICN 177676
<i>T. tenuifolia</i> L.	Brasil/ Rio Grande do Sul	ICN 178394
	Brasil/ Rio Grande do Sul	ICN 178393
<i>T. winkleri</i> Strehl	Brasil/ Rio Grande do Sul	ICN 179142
<i>Tillandsia subg. Phytarrhiza</i>		
<i>T. crocata</i> (E. Morren) Baker	Brasil/ Rio grande do Sul	ICN 179141
<i>T. cyanea</i> Linden ex K. Koch	Equador / Chimborazo	MSBG 1983-0070
<i>T. dodsonii</i> L.B. Sm.	Equador/ Azuay	MSBG 1991-0035
<i>T. duratii</i> Visiani	Bolívia/ La Paz	MSBG 1983-0012
	Brasil/ Rio grande do Sul	BROM 00368
	Brasil/ Rio grande do Sul	BROM 00043
<i>T. dyeriana</i> André	Equador/ Esmeralda	MSBG 1982-0215
<i>T. lindenii</i> Regel	Peru	MSBG 1990-0415
<i>T. pretiosa</i> Mez	Equador/ Ibabura	MSBG 1994-0436

Tillandsia subg. Allardtia

<i>T. latifolia</i> Meyen ex Baker	Peru	MSBG 1992-0338
<i>T. lorentziana</i> Griseb.	Brasil/ Minas Gerais	MSBG 1992-0448
<i>T. vernicosa</i> Baker	Bolívia/ La Paz	MSBG 1981-0077

Tillandsia subg. Tillandsia

<i>T. baileyi</i> Rose ex Small	México / Tamaulepas	MSBG 1988-0052
<i>T. bulbosa</i> Hooker	Belize	MSBG 1985-0324
<i>T. festucoides</i> Brongniart ex Mez	Belize/ Caio	MSBG 2015-0042
<i>T. funckiana</i> Baker	Venezuela/ Barinas	MSBG 1985-1874
<i>T. hammeri</i> Rauh & Ehlers	México/ Oaxaca	MSBG 1992-0275
<i>T. ionantha</i> Planchon	México/ Oaxaca	MSBG 2006-0029
<i>T. mima</i> L.B. Sm.	Equador/ Azuay	MSBG 1989-0030
<i>T. polystachya</i> (L.) L.	México/ Vera Cruz	MSBG 1985-0708
<i>T. schiedeana</i> Steudel	México/ Chiapas	MSBG 1980-1601
	Belize/ Toledo	MSBG 1997-0214
<i>T. simulata</i> Small	Estados Unidos/Florida	MSBG 1978-2254
	Estados Unidos/Florida	MSBG 2007-0178
	Costa Rica/ São José	MSBG 1985-1214

Tillandsia subg. Diaphorantema

<i>T. usneoides</i> (L.) L.	Costa Rica/ Cartago	MSBG 1987-0011
-----------------------------	---------------------	----------------

Vriesea sect. Vriesea

<i>V. guttata</i> Linden & André	Brasil/ Rio de Janeiro	ICN 192183
<i>V. simplex</i> (Vellozo) Beer	Brasil/ São Paulo	ICN 190909
	Brasil/ São Paulo	ICN 190910
<i>V. scalaris</i> E. Morren	Brasil/ Rio de Janeiro	MSBG 2001-0018
<i>V. psittacina</i> (Hooker) Lindley	Paraguai	MSBG 2008-0362
<i>V. flava</i> A.F. Costa, H. Luther & Wand.	Brasil/ Paraná	ICN 178396

<i>V. barclayana</i> (Baker) L.B. Sm.	Equador	MSBG 1996-0443
<i>V. weberi</i> E. Pereira & I.A. Penna	Brasil/ Espírito Santo	MSBG 2000-0102
<i>V. barilletii</i> E. Morren	Brasil	MSBG 1990-0818
<i>V. bleherae</i>	Brasil	MSBG 1086-0307
<i>V. espinosae</i> (L.B. Sm.) Gilmartin	Equador/ Manambí	MSBG 1980-0337
<i>V. chrysostachys</i> E. Morren	Peru	MSBG 1993-0018
<i>V. laxa</i> Mez	Venezuela/ Aragua	MSBG 1993-0412
<i>Vriesea</i> sect. <i>Xiphion</i>		
<i>V. drepanocarpa</i> (Baker) Mez	Brasil/ Santa Catarina	ICN 178392
	Brasil/ Rio Grande do Sul	BROM 00751
<i>V. minuta</i> Leme	Brasil/ Bahia	MSBG 1997-0035
<i>V. rubra</i> (Ruiz & Pavón) Beer	Colômbia	MSBG 1980-1223
<i>Werauhia</i>		
<i>W. sanguinolenta</i> (Linden ex Cogniaux & Marchal) J.R. Grant	Equador/ Morona-Santiago	MSBG 1996-0403
	Costa Rica/ São José	MSBG 2008-0204
<i>W. gladioliflora</i> (H. Wendland) J.R. Grant	Costa Rica	MSBG 1985-0274
	Costa Rica/ São José	MSBG 2003-0382

CAPÍTULO V

Considerações finais e perspectivas futuras

Nesse estudo foram abordadas diversas características anatômicas e morfológicas detalhadas de estruturas florais em Bromeliaceae com um enfoque na subfamília Tillandsioideae. A ampla amostragem de espécies pertencentes a família em questão, adquirida ao longo da tese, proporcionou a análise de um grande volume de dados o qual confere uma maior confiabilidade dos resultados obtidos. Assim, demonstrou-se que estruturas anteriormente consideradas instáveis em Bromeliaceae apresentam claros padrões dentro das subfamílias, gêneros e até mesmo grupos de espécies geograficamente relacionadas.

Esse trabalho também trás dados inéditos sobre o ovário e rudimento seminal de subfamílias ainda não contempladas em estudos embriológicos, possibilitando inferir tendências evolutivas do rudimento seminal e ovário em Bromeliaceae, baseados na atual filogenia.

Dessa forma, a presença de estruturas diferenciadas na parede do ovário foram observadas em grupos derivados da família. Com relação ao rudimento seminal, partindo da condição ancestral, o tegumento externo sofreu espessamento de forma ampla em Bromeliaceae e de maneira contrária, o tegumento interno apresenta uma maior estabilidade com relação ao seu número de camadas. A presença do tegumento interno mais longo do que o externo é amplamente observada na em Bromeliaceae, com exceções de certos gêneros pertencentes as duas maiores subfamílias, Tillandsioideae e Bromelioideae.

O apêndice calazal é uma estrutura típica de rudimentos seminais em Bromeliaceae, sendo observado em todas as subfamílias. No entanto, essa estrutura demonstra uma tendência de redução e inclusive completa perda em subfamílias de divergência tardia. Com relação a morfologia do apêndice calazal, *Catopsis* e *Puya* apresentam padrões exclusivos, sendo este múltiplo, no primeiro gênero, e lateral, no segundo. Ainda a estrutura dos apêndice calazal de

Catopsis foi reavaliada, sendo observado sua origem subdérmica. Em Tillandsioideae, onde um maior número de gêneros e espécies foram analisados, pode se delimitar diferentes padrões de comprimento do apêndice calazal, sendo estes completamente estáveis em certos grupos da subfamília.

A epiderme nucelar apresenta-se alongada na maioria das subfamílias de Bromeliaceae, no entanto esse caráter não é observado em diversas espécies pertencentes a Bromelioideae.

A morfologia externa das anteras de sete gêneros de Tillandsioideae foi descrita, definindo assim diferentes padrões para o grupo.

Assim, o presente estudo demonstra que características do ovário, do rudimento seminal e da antera são potencialmente indicadas para análises filogenéticas quando utilizadas em conjunto. Dessa forma, futuramente, em continuidade ao trabalho desta tese, pretende-se investigar características embriológicas de um amplo número de espécies pertencentes a subfamília Bromelioideae, a qual apresenta o maior número de gêneros com difícil delimitação na família. E ainda, pretende-se estudar mais detalhadamente características do androceu em Tillandsioideae, focando dados sobre a anatomia da antera, estrutura morfológica do pólen e estratificação da esporoderme.