

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

**CONSERVAÇÃO DE SEMENTES E MORFOANATOMIA
FOLIAR DE ESPÉCIES DE *Tillandsia* (Bromeliaceae)
OCORRENTES NA BAHIA, BRASIL**

RAFAELLE SOUZA DE OLIVEIRA

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA
2020**

**CONSERVAÇÃO DE SEMENTES E MORFOANATOMIA FOLIAR DE
ESPÉCIES DE *Tillandsia* (Bromeliaceae) OCORRENTES NA BAHIA,
BRASIL**

Rafaelle Souza de Oliveira

Bacharelado em Engenharia Florestal
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2017

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

Orientador: Dr. Everton Hilo de Souza

Coorientadora: Dra. Fernanda Vidigal Duarte
Souza

Coorientadora: Dra. Lidyanne Yuriko Saleme
Aona

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA
2020**

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

**CONSERVAÇÃO DE SEMENTES E MORFOANATOMIA FOLIAR DE
ESPÉCIES DE *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) OCORRENTES NA
BAHIA, BRASIL**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Rafaelle Souza de Oliveira

Aprovada em 6 de maio de 2020

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

Prof. Dr. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
(Examinador Interno)

Prof. Dr. Kleber Resende Silva
Universidade de São Paulo
(Examinador Externo)

FICHA CATALOGRÁFICA

O48c

Oliveira, Rafaelle de Souza

Conservação de sementes e morfoanatomia foliar de *Tillandsia L.* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil / Rafaelle de Souza Oliveira. _ Cruz das Almas, BA, 2020. 92f.; il.

Orientador: Prof. Dr. Everton Hilo de Souza

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

1. Sementes. 2. Bromélias 3. Criopreservação.
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 631.521

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.
Responsável pela Elaboração - Neubler Nilo Ribeiro da Cunha (*Bibliotecário - CRB5/1578*)
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico)

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente aos meus pais, Raimundo e Ednilce, por todo o apoio e a paciência durante o mestrado e a graduação, por terem aguentado minha ausência por tanto tempo, e por terem vibrado junto comigo a cada etapa concluída. Espero lhes trazer orgulho. Amo vocês.

Ao meu irmão, Raimundo Victor, por existir, e por todas as vezes que me fez rir. É bom te ter por perto de novo.

A minhas tias e primas, por estarem sempre presentes na minha vida, mesmo de longe.

Às melhores pessoas que o mestrado poderia me apresentar: Idália, Thiago, Rosalina, Brayan, Michele, Railson, Márcio, Amanda; e às melhores pessoas que a Embrapa poderia me apresentar: Jamile, Jasmin, Daniela, Sabrina, Adailson, Fabiana, Patrícia, Manassés, Wagner, e tantas outras pessoas. Serei eternamente grata pela sua amizade.

A Hélder, apesar de tudo. Sempre serei muito grata por todos os ensinamentos.

A Marcos e Nana, pelas horas de conversa e pelos conselhos.

A Sandra, minha querida diva. Sem você esse trabalho não teria ido a lugar algum. E eu não teria chegado a lugar algum.

A Felipe Paiva, por todo o tempo dedicado a mim durante a vida.

A Lari, meu bichinho. Agradeço por todo o apoio na reta final dessa etapa da minha vida. Você me acalma e sempre me mostra o lado positivo das coisas.

A G., por tudo. Você é o meu herói.

A Mônica Rossi, pelo auxílio e colaboração nas etapas da análise da microscopia eletrônica de varredura.

A Everton e Fernanda, meus orientadores. Agradeço pela paciência especialmente nos momentos em que o trabalho parecia interminável.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Nº BOL0177/2018), pela concessão da bolsa para o desenvolvimento desta pesquisa, e à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, por ter me acolhido durante esses 8 anos.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura e ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, pela disponibilidade da estrutura física e recursos materiais para realização deste trabalho.

Ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica (PROCAD - 88887.124186/2014-00), pela concessão de auxílio financeiro, ao Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME/ LFN/ Esalq/ USP) e ao Laboratório de Biologia do Desenvolvimento e Estrutura Vegetal, na pessoa da Profa. Adriana Pinheiro Martinelli, CENA/USP pela infraestrutura para realização dos trabalhos de microscopia eletrônica de varredura.

Serei eternamente grata.

CONSERVAÇÃO DE SEMENTES E MORFOANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE *Tillandsia* (Bromeliaceae) OCORRENTES NA BAHIA, BRASIL

RESUMO: *Tillandsia* pertence à família Bromeliaceae e abriga uma enorme variedade de hábitos, tamanhos e colorações. Estudos relacionados à morfoanatomia vegetal de *Tillandsia* são relevantes para auxiliar em trabalhos taxonômicos, principalmente na classificação intraespecífica de Bromeliaceae, revelando espécies proximamente relacionadas. Os estudos de conservação são igualmente importantes para *Tillandsia*, já que as espécies possuem alto potencial ornamental, o que tem levado muitas espécies à extinção, devido ao extrativismo predatório para comercialização. O alto grau de endemismo das espécies também favorece a extinção, o que torna indispensável a realização de estudos para desenvolver estratégias para conservação do gênero, além de subsidiar estudos semelhantes para outras espécies de Bromeliaceae. A manutenção de germoplasma vegetal, por exemplo, as sementes, em temperaturas baixas e ultrabaixas permite resguardar material genético a longo prazo em espaços reduzidos, tornando-se uma alternativa altamente viável e custo relativamente baixo. Esta dissertação está dividida em dois capítulos, que abrangem estudos de conservação de sementes (Capítulo 1) e de morfoanatomia foliar (Capítulo 2) de 20 e 25 espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, respectivamente. O primeiro capítulo aborda a conservação de sementes dessas espécies, a partir de duas estratégias, com uma de médio prazo, a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e outra de longo prazo, mais especificamente, por criopreservação a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento em nitrogênio líquido foi um método promissor para a conservação de sementes de 20 espécies de *Tillandsia* quando dessecadas a um teor de água de aproximadamente 7%. Pode-se concluir que os resultados aqui apresentados apoiam o estabelecimento de um criobanco de *Tillandsia*, principalmente para espécies endêmicas e vulneráveis a extinção. Já o segundo capítulo apresenta estudos sobre a morfoanatomia foliar utilizando microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz, a fim de contribuir para os estudos taxonômicos do gênero e entender suas adaptações ao hábitat. Os estudos morfoanatômicos foliares permitiram o agrupamento das espécies a partir dos subgêneros, com exceção de *T. linearis* que formou um agrupamento separado de *Phytarrhiza*. Os caracteres morfoanatômicos permitiram estabelecer um padrão para as espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, além de indicar caracteres relacionados à forma de vida epífita nos diferentes ambientes, principalmente em ambientes xéricos.

Palavras-chave: Bromélia, Criopreservação, Ecologia, Monocotiledônea, Taxonomia, Tillandsioideae.

SEED CONSERVATION AND LEAF MORPHOANATOMY OF *Tillandsia* SPECIES (Bromeliaceae) OCCURRENT IN BAHIA STATE, BRASIL

ABSTRACT: *Tillandsia* belongs to the Bromeliaceae family and is home to a huge variety of habits, sizes and colours. Studies related to *Tillandsia*'s plant morphoanatomy are relevant to assist in taxonomic studies, especially in the intra-species classification of Bromeliaceae, revealing closely related species. Conservation studies are equally important for *Tillandsia*, as the species have high ornamental potential, which has led many species to extinction due to predatory extractivism for commercialization. The high degree of endemism of the species also favors extinction, which makes it indispensable to conduct studies to develop strategies for the conservation of the genus, in addition to subsidizing similar studies for other species of Bromeliaceae. Maintaining plant germplasm, such as seeds, at low and ultra-low temperatures allows to protect genetic material in the long term in reduced spaces, becoming a highly viable and relatively low cost alternative. This dissertation is divided into two chapters, which cover conservation studies of seeds (Chapter 1) and foliar morphoanatomy (Chapter 2) of 20 and 25 *Tillandsia* species occurring in Bahia, respectively. The first chapter deals with the conservation of seeds of these species, based on two strategies, one medium-term, -5oC and the other long-term, more specifically cryopreservation at -196oC. Liquid nitrogen storage was a promising method for the conservation of seeds of 20 *Tillandsia* species when dried at a water content of approximately 7%. It can be concluded that the results presented here support the establishment of a *Tillandsia* cryobank, mainly for endemic and endangered species. The second chapter presents studies on foliar morphoanatomy using scanning electron microscopy and light microscopy in order to contribute to taxonomic studies of the genus and to understand its adaptations to the habitat. The foliar morphoanatomical studies allowed the grouping of the species from the subgenera, with the exception of *T. linearis*, which formed a separate grouping of *Phytarrhiza*. The morphoanatomic characters allowed to establish a pattern for the *Tillandsia* species occurring in Bahia, besides indicating characters related to the epiphytic life form in different environments, mainly in xeric environments.

Keywords: Bromeliad, Cryopreservation, Ecology, Monocot, Taxonomy, Tillandsioideae.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
REVISÃO DE LITERATURA	14
<i>Bromeliaceae</i>	14
<i>Tillandsia</i> L.	15
<i>Conservação de germoplasma e criopreservação</i>	18
<i>Anatomia Foliar em Bromeliaceae</i>	23
REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO 1	
CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIES DE <i>Tillandsia</i> (Bromeliaceae) OCORRENTES NA BAHIA, BRASIL¹	34
RESUMO	35
ABSTRACT	36
INTRODUÇÃO	37
MATERIAL E MÉTODOS	39
<i>Material Vegetal</i>	39
<i>Morfometria e massa de 1.000 sementes</i>	39
<i>Conteúdo de água das sementes</i>	41
<i>Ensaio de germinação e dessecação</i>	41
<i>Conservação das sementes</i>	42
RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
<i>Morfometria, massa de 1000 sementes e conteúdo de água</i>	43
<i>Ensaio de dessecação e germinação</i>	46
<i>Conservação das sementes</i>	49
REFERÊNCIAS	55
CAPÍTULO 2	
MORFOANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE <i>Tillandsia</i> (Bromeliaceae) OCORRENTES NA BAHIA, BRASIL²	59
RESUMO	60
ABSTRACT	61
INTRODUÇÃO	62
MATERIAL E MÉTODOS	65
<i>Material Vegetal</i>	65
<i>Morfoanatomia foliar</i>	65

RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
<i>Morfoanatomia foliar</i>	67
REFERÊNCIAS	87

INTRODUÇÃO

Tillandsia L. é o gênero mais representativo da família Bromeliaceae. É composto por aproximadamente 746 espécies (GOUDA et al., 2020), dentre as quais é possível encontrar plantas rupícolas, terrestres, epífitas e saxícolas. No Brasil ocorrem 86 espécies de *Tillandsia*, das quais, mais da metade são endêmicas ou microendêmicas (FLORA DO BRASIL 2020 em construção). Para o estado da Bahia, estão registradas 26 espécies, agrupadas em quatro subgêneros: *Anoplophytum* (Beer) Baker, *Phytarrhiza* (Vis.) Baker, *Tillandsia* (G. Nicholson) e *Diaphoranthema* (Beer) Baker (BARFUSS et al., 2016; FLORA DO BRASIL 2020 em construção).

Neste trabalho, foram estudadas 26 espécies do gênero *Tillandsia*: *T. bulbosa* Hook.f. (Figura 1a), *T. juncea* (Tuiz & Pav.) Poir (Figura 1b), *T. paraensis* Mez (Figura 1c), *T. polystachia* (L.) L. (Figura 1d), *T. pruinosa* Sw. (Figura 1e) (subgênero *Tillandsia*); *T. loliaceae* Mart. ex Schult. & Shult.f. (Figura 1f), *T. recurvata* (L.) L. (Figura 1g), *T. tricholepis* Baker (Figura 1h), *T. usneoides* (L.) L. (Figura 1i) (subgênero *Diaphoranthema*); *T. linearis* Vell. (Figura 1j), *T. streptocarpa* Baker 1 (Figura 1k), *T. streptocarpa* 2 (Figura 1l), *Tillandsia* sp. (Figura 1m) (subgênero *Phytarrhiza*); e *T. chapeuensis* Raul (Figura 1n), *T. gardneri* Lindl. (Figura 1o), *T. geminiflora* Brongn (Figura 1p), *T. globosa* Wawra (Figura 2a), *T. heubergeri* Ehlers (Figura 2b), *T. milagrensis* Leme (Figura 2c), *T. pohliana* Mez (Figura 2d), *T. sprengeliana* Klotzsch ex Mez (Figura 2e), *T. stricta* Sol. 1 (Figura 2f), *T. stricta* Sol. 2 (Figura 2g), *T. stricta* var. subsp. *piniformis* Rauh ex.Ehers & H.Heidt (Figura 2h), *T. tenuifolia* L. (Figura 2i) e *T. tenuifolia* var. *vaginata* (Wawra) L.B.Sm. (Figura 2j) (subgênero *Anoplophytum*).

Esta dissertação está dividida em dois capítulos, que abrangem estudos de conservação de sementes (Capítulo 1) e de morfoanatomia foliar (Capítulo 2) das espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia.

O primeiro capítulo aborda a conservação de sementes dessas espécies, a partir de duas estratégias, uma de médio prazo, a -5 °C, e outra de longo prazo, mais especificamente, por criopreservação a -196 °C de 20 espécies de *Tillandsia*. Os estudos de conservação são importantes para esse gênero, já que as espécies de *Tillandsia* possuem alto potencial ornamental, o que tem levado muitas à extinção, devido ao extrativismo predatório para comercialização (FORZZA et al.,

2013). A manutenção de germoplasma vegetal em temperaturas baixas e ultrabaixas permite resguardar material genético a longo prazo em espaços reduzidos, tornando-se uma alternativa altamente viável e de custo relativamente baixo. O alto grau de endemismo dessas espécies também favorece a extinção, já que muitas espécies ocorrem somente em uma região ou microrregião geográfica, o que torna indispensável a realização de estudos para desenvolver estratégias para conservação do gênero, além de subsidiar estudos semelhantes para outras espécies de Bromeliaceae e de outras famílias.

Já o segundo capítulo apresenta estudos sobre a morfoanatomia foliar utilizando microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz de 25 espécies de *Tillandsia*, a fim de contribuir para os estudos taxonômicos do gênero e entender as relações com o ambiente. A realização de estudos voltados à anatomia vegetal de *Tillandsia* é relevante para auxiliar os trabalhos de taxonomia, diferenciando ou agrupando espécies proximamente relacionadas, auxiliando na classificação intraespecífica de Bromeliaceae. A partir de estudos filogenéticos já disponíveis na literatura e do entendimento da plasticidade fenotípica, onde a mesma espécie pode apresentar diferentes características de acordo com os ambientes onde ocorre, é possível determinar se grupos morfologicamente diferentes são anatomicamente iguais, por exemplo.

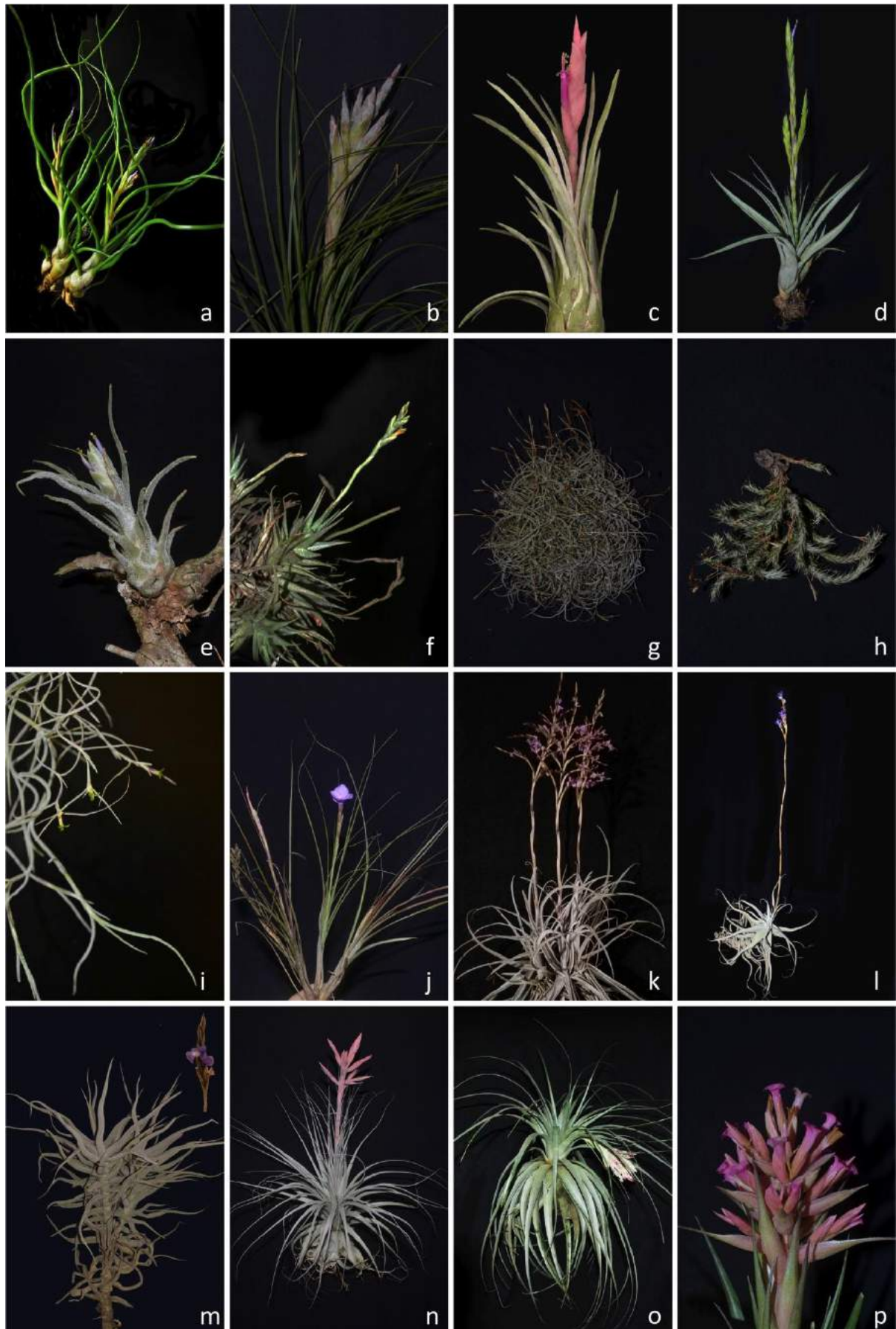


Figura 1. Espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil. a) *T. bulbosa* Hook.f.; b) *T. juncea* (Tuiz & Pav.) Poir.; c) *T. paraensis* Mez; d) *T. polystachia* (L.) L.; e) *T.*

pruinosa Sw.; f) *T. loliaceae* Mart. ex Schult. & Shult.f.; g) *T. recurvata* (L.) L.; h) *T. tricholepis* Baker; i) *T. usneoides* (L.) L.; j) *T. linearis* Vell.; k) *T. streptocarpa* Baker 1; l) *T. streptocarpa* Baker 2; m) *Tillandsia* sp.; n) *Tillandsia chapeuensis* Rauh; o) *T. gardneri* Lindl.; p) *T. geminiflora* Brongn.



Figura 2. Espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil. a) *T. globosa* Wawra; b) *T. heubergeri* Ehlers; c) *T. milagrensis* Leme; d) *T. pohliana* Mez; e) *T. sprengeliana* Klotzsch ex Mez; f) *T. stricta* Sol. 1; g) *T. stricta* Sol. 2; h) *T. stricta* subsp. *piniformis* Rauh ex Ehlers & H. Heidt; i) *T. tenuifolia* L.; j) *T. tenuifolia* var. *vaginata* (Wawra) L.B. Sm.

REVISÃO DE LITERATURA

Bromeliaceae

Bromeliaceae Juss., pertencente à Ordem Poales (APG IV, 2016), abrange atualmente 77 gêneros e 3.628 espécies (GOUDA et al., 2020). No Brasil são encontrados aproximadamente 46 gêneros e 1.736 espécies (GOUDA et al., 2020). Destas, 1.178 espécies, agrupadas em 20 gêneros, são endêmicas. Apesar de haver registros da ocorrência de espécies em todos os biomas do país, a Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica são os biomas de maior representatividade da família, ocorrendo respectivamente 127, 257 e 922 espécies, sendo a Mata Atlântica um dos centros de diversidade (MARTINELLI et al., 2008; FLORA DO BRASIL 2020 em construção).

Smith e Downs (1974; 1977; 1979) organizaram a família em três subfamílias (Pitcairnioideae, Bromelioideae e Tillandsioideae) a partir de estudos morfológicos das flores, frutos e sementes. Givnish et al. (2007; 2011) reclassificaram a subfamília Pitcairnioideae em mais cinco, a partir de dados moleculares e filogenéticos, passando a família possuir oito subfamílias: Bromelioideae (991 spp.), Tillandsioideae (1.492 spp.), Navioideae (112 spp.), Brocchinioideae (20 spp.), Lindmanioideae (45 spp.), Picairnioideae (667 spp.), Hechtioideae (75 spp.), e Puyoideae (226 spp.) (GOUDA et al., 2020). A família ocorre tipicamente em zonas tropicais e subtropicais das Américas, com exceção de *Pitcairnia feliciana* (A. Chev.) Harms e Mildbraed, que ocorre no continente africano, na região de Guiné (SMITH; DOWNS, 1974).

Tillandsioideae possui o maior número de espécies dentre as subfamílias de Bromeliaceae, e engloba alguns gêneros de grande interesse comercial, como *Alcantarea* (E.Morren ex Mez) Harms (41 spp.), *Barfussia* Manzan. & W.Till (3 spp.), *Guzmania* Ruiz & Pav. (215 spp.), *Vriesea* Lindl. (231 spp.) e *Tillandsia* (746 spp) (GOUDA et al., 2020), dada a sua forma bastante ornamental. A forma de vida epifítica característica de seus representantes demonstra maior independência em relação ao ambiente de cultivo, visto que estas utilizam os tricomas, e não as raízes, para absorver nutrientes e água da atmosfera (CRAYN et al., 2004).

Como as bromélias são encontradas em locais de condições tão diferenciadas, adaptando-se a diversas situações de umidade, sombreamento, temperatura e altitude, foi possível que as mesmas obtivessem sucesso evolutivo,

possuindo algumas espécies até mesmo o hábito epifítico facultativo. Os tricomas escamiformes são a característica morfológica de grande importância em Bromeliaceae, sendo responsável pela absorção de água e nutrientes (PIERCE et al., 2001).

Os representantes de Bromeliaceae possuem papel importante em atividades comerciais como ornamentação, alimentação, produção de fibras, enzimas, dentre outras utilidades, além de terem considerável função ecológica dentro dos ecossistemas (SOUZA et al., 2018; LADINO et al., 2019). Muitas espécies de Bromeliaceae abrigam dentro de suas folhas em forma de roseta seu próprio ecossistema com o acúmulo água. Estas espécies promovem o habitat para uma diversidade de microrganismos, insetos, aracnídeos, anfíbios e répteis (RATSIRARSON; SILANDER, 1996), além de desempenhar um papel de *nurse plants* para muitas espécies correlacionadas (TSUDA; CASTELLANI, 2015) deixando bem evidente sua importância dentro de um bioma.

Além disso, diversas espécies são utilizadas como alimento para inúmeros grupos de animais, desde mamíferos até aves e insetos, que se alimentam e muitos acabam polinizando as flores. Beija-flores e morcegos são os grupos que mantêm relações mais próximas com as bromélias (VARASSIN; SAZIMA, 2000; MALDONADO et al., 2013; QUEIROZ et al., 2016; KESSLER et al., 2020). Esses autores afirmam que Bromeliaceae, por possuir ampla distribuição tanto vertical quanto horizontal, pode se traduzir em um modelo excelente para estudar as interações entre planta e animal, e as relações entre sua diversidade.

Tillandsia L.

Dentre as espécies de *Tillandsia*, é possível observar espécies rupícolas, terrestres, epífitas e saxícolas. A plasticidade adaptativa desse gênero permite que possam se desenvolver em ambientes com diferentes condições edáficas e climáticas, como em desertos, florestas úmidas e planaltos, além de desenvolver relações simbióticas com pequenos invertebrados (STEFANO et al., 2008). Este é também, um dos gêneros de maior ocorrência na Caatinga (PONTES; AGRA, 2006), sendo este o único bioma exclusivamente brasileiro (SILVA et al., 2019).

As bromélias epífitas são também ferramentas para se estudar a presença de determinados compostos na atmosfera (SANTOS et al., 2013a). Como elas

absorvem nutrientes do ar e não de substratos, através dos elementos minerais acumulados em suas folhas é possível inferir com alta precisão sobre a poluição atmosférica por meio de espectrometria de massa, dentre outros. Há registros de espécies de *Tillandsia* sendo utilizadas como bioindicadores de contaminação ambiental em Recife (PE) (SANTOS et al., 2013a), Juiz de Fora (MG) (COSTA et al., 2019), São Paulo (SP) (ALBUQUERQUE et al., 2013), Curitiba (PR) (PIAZZETTA et al., 2019), Lima (Peru) (BEDREGAL et al., 2009) e Florença (Itália) (BRIGHIGNA et al., 2002).

De acordo com Pontes e Agra (2006) e Barfuss et al. (2016), *Tillandsia* pode ser reconhecida por algumas características: folhas distribuídas ao longo do caule, desprovidas de espinhos, de filotaxia dística ou polística, com margens inteiras. O limbo das folhas pode ter característica ligulada, lanceolada ou linear-filiforme. Seu revestimento pode ser levemente acinzentado, com tricomas simétricos ou assimétricos. O contorno das folhas pode ser variado, desde irregular até arredondado ou triangular. O escapo floral pode variar, desde muito saliente até ausente. Possui inflorescências em formato de espiga, simples ou ramificada, com flores dispostas na inflorescência de forma dística ou polística. Raramente pode ocorrer uma única flor. A bráctea floral é muito desenvolvida, e pode ter formato elíptico, oval-lanceolada ou elíptico-lanceolada. As flores são sésseis e eretas com sépalas simétricas, livres ou soldadas. As pétalas são livres, e podem se apresentar em variadas cores (brancas, róseas, amarelas, azuis, lilases e verde-amareladas).

As flores possuem sempre seis estames, inclusos ou exsertos, de filetes cilíndricos ou complanados, e anteras deiscentes, de abertura longitudinal, e podem se apresentar brancas, amarelas, lilás ou negras. O ovário é súpero, não apresentando tricomas na superfície, com muitos óvulos, o que geralmente implica em grande quantidade de sementes nos frutos. O estigma pode variar de simples-ereto, coraliforme, espiral-conduplicado ou lâmina-convoluta (BROWN; GILMARTIN, 1984). Recentemente uma nova classificação morfológica para os estigmas da subfamília Tillandsioideae foi proposta por Barfuss et al. (2016): conduplicado-ereto, conduplicado-patente, conduplicado-pinatisecta, conduplicado-espiral, lâmina-convoluta I, lâmina-convoluta II, convoluta-obcônico, convoluto-umbrella, coraliforme, cupulado, simples-ereto, simples-patente, simples-pinatisecta, simples-truncado, tubo-laciniado, urceolado. Já o fruto é uma cápsula que se abre através dos lóculos,

e as sementes possuem formato fusiforme ou cilíndrico, dotadas de apêndices basais plumosos e de cor castanha.

A maioria dos representantes de Bromeliaceae apresenta metabolismo CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), o que também ocorre em Tillandsioideae (QUEZADA et al., 2018). O metabolismo CAM se trata de uma adaptação a climas mais áridos, já que, durante o dia, as plantas são expostas a condições excessivas de luminosidade e a estresse hídrico (CHOMTHONG; GRIFFITHS, 2020). No entanto, a capacidade que essas plantas possuem de fechar seus estômatos durante o dia e abri-los somente à noite permite reduzir a perda de água e CO₂ para o ambiente (PIMENTEL, 1998; CHOMTHONG; GRIFFITHS, 2020). Essa característica representa um importante ganho evolutivo e adaptativo, pois permitiu, juntamente com os tricomas escamiforme das folhas e brácteas, que são um carácter apomórfico da família, que as *Tillandsia* adquirissem a capacidade de absorver água e nutrientes diretamente do ar, sem a necessidade de manter suas raízes em contato com o solo (PIAZZETTA et al., 2019). As raízes, por vez, possuem a função de fixação, permitindo seu crescimento e desenvolvimento em troncos e galhos de espécies arbóreas e afloramentos rochosos, sendo mortas na maturidade (PROENÇA; SAJO, 2007).

Diversos estudos vêm sendo realizados tendo como alvo de investigação os tricomas escamiformes de *Tillandsia* (ROBINSON, 1969; BENZING, 1970; 1976; BENZING; RENFROW, 1974; BENZING et al., 1976; SCATENA; SEGECIN, 2005; PROENÇA; SAJO, 2007; STEFANO et al., 2008; VERSIEUX et al., 2010; 2013; VERSIEUX; MEDEIROS, 2018). Stefano et al. (2008) afirmam que os tricomas são a chave para o sucesso do epifitismo do gênero. Esses tricomas são estruturas multicelulares, constituídos horizontalmente por células basais pedunculares, e por um escudo de arranjo concêntrico (células centrais, células periféricas e células subperiféricas) que se desenvolve sobre a superfície foliar e penetrando verticalmente no mesofilo (BENZING, 2000; TOMLINSON, 1969; SMITH; DOWNS, 1974). Stefano et al. (2008) afirmam ainda que existe relação direta entre os tricomas e a frequência de estômatos nas folhas para o subgênero *Tillandsia*. As células periféricas do escudo são responsáveis pela absorção de água, que é transportada para as células mais internas, e flui através de eixos subjacentes, que distribuem a água para os tecidos mais internos da planta (BENZING, 2000; SMITH; DOWNS, 1974); tal mecanismo pode ser comparado, em termos de funcionalidade,

aos mecanismos de funcionamento das raízes das plantas terrestres. Se as plantas estão secas, passando por um estresse híbrido, por exemplo, as partes móveis (asa) dos tricomas se contraem e se elevam, atribuindo às folhas um aspecto acinzentado. Quando estão úmidas, as asas dos tricomas se voltam para baixo e conferem à planta uma cor verde brilhante (BENZING et al., 1976; BENZING, 1976; STEFANO et al. 2008).

Além da capacidade de absorção, os tricomas podem atuar como uma barreira, protegendo contra a radiação solar e bloqueando a entrada de partículas orgânicas para o interior da roseta, e também são habitat para outros microrganismos como bactérias, fungos, leveduras e até mesmo cianobactérias fixadoras de nitrogênio (BENZING, 1970; 1976; BENZING; RENFROW, 1974; BENZING et al., 1976; PROENÇA; SAJO, 2007; STEFANO et al., 2008).

Conservação de germoplasma e criopreservação

As técnicas de conservação de germoplasma têm por finalidade resguardar a variabilidade genética de espécies de importância econômica, ecológica, cultural, em perigo de extinção, dentre outras. A conservação de germoplasma vem se tornando prioridade para muitos países, devido à grande necessidade de se resguardar a diversidade genética, tanto de plantas como de animais e microrganismos, tendo em vista as ações antrópicas nas áreas de ocorrência natural. Estas ações são responsáveis por elevar o grau de extinção de diversas espécies, devido à destruição das áreas de matas nativas (RAZDAN, 2003).

A conservação de recursos genéticos vegetais pode ser de forma *in situ* ou *ex situ* (HEYWOOD; IRIONDO, 2003; RAJPUROHIT; JHANG, 2015). A conservação *in situ* trata de manter as populações naturais em seus locais de origem, a exemplo da criação de unidades de conservação ou reservas legais. Já a forma *ex situ* trata de manter as espécies fora de seu local de origem, armazenadas em bancos de germoplasma, que podem estar em condições de campo ou laboratoriais. Ambos os métodos possuem vantagens e desvantagens, especialmente em se tratando de estrutura física necessária, recursos financeiros e mão de obra especializada (ENGELMANN, 2011). Apesar dos vários aspectos positivos da estratégia de conservação *in situ*, a dependência de políticas públicas tem dificultado muito sua implementação nos biomas citados, o que contribui para tornar a forma de conservação *ex situ* mais viável.

Os bancos de germoplasma são formados e mantidos com o objetivo de conservar e disponibilizar materiais genéticos, como sementes, grãos de pólen, e outras estruturas de propagação vegetativa, como gemas e calos, prontamente para as empresas, universidades e organizações que os mantêm (VEIGA et al., 2012). Por serem constituídos de vários genótipos, como no caso do Banco Ativo de Germoplasma de Abacaxi (SOUZA et al., 2012), ou por várias espécies da mesma família, como o Banco de Germoplasma de Bromélias (SOUZA et al., 2013), ambos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, estes bancos abrigam uma grande diversidade genética, com a finalidade de desenvolver projetos de melhoramento genético, desenvolvimento de novas cultivares, conservação e propagação de espécies em risco de extinção, dentre outras atividades (SOUZA et al., 2012; SILVA et al., 2016).

Os bancos de germoplasma podem ser classificados como coleção de base, coleção ativa, coleção *in vitro*, coleção de trabalho, coleção de campo, coleção nuclear, criopreservação e banco genômico (VEIGA et al., 2012). Cada um possui diferentes funções, a depender do objetivo da instituição responsável pela manutenção desses bancos. Em se tratando de bancos de sementes, é a condição (ortodoxa, intermediária ou recalcitrante) que irá designar a forma como as espécies serão conservadas. As espécies de sementes ortodoxas aceitam dessecação até aproximadamente 5% do conteúdo inicial de água contido na semente, e toleram temperaturas em torno de -18 °C, o que torna viável e facilita sua conservação (ROBERTS, 1973). Já as sementes recalcitrantes são mais sensíveis à desidratação e ao resfriamento, implicando na perda de viabilidade se armazenadas em condições semelhantes às toleradas pelas sementes ortodoxas; e as intermediárias são moderadamente sensíveis, ou seja, um meio termo entre as ortodoxas e as recalcitrantes (ELLIS et al., 1990; 1991; ROBERTS, 1973; SANTOS, 2000). Quanto mais sensíveis, maior será a necessidade de se encontrar métodos alternativos para sua conservação.

Diversas estratégias de conservação de germoplasma são utilizadas, desde bancos em campo, em casa de vegetação ou em laboratório, que podem ser a conservação *in vitro* ou a criopreservação. As diferenças entre elas se relacionam, principalmente, em como manter o germoplasma, a dependência em relação à mão de obra e, conseqüentemente, o custo e a segurança de sua manutenção (WITHERS; WILIAMS, 1998; PRIYADARSHAN, 2019). Essas estratégias possuem vantagens e desvantagens, já que ao instalar um banco em campo, o mesmo fica

sujeito às intempéries da natureza e demanda uma grande área física, além da manutenção constante, o que não acontece quando o banco se localiza em laboratório. Os bancos em laboratório, por sua vez, demandam uma estrutura mais elaborada e mão de obra especializada (ENGELMANN, 2011), mas podem ser seguros e de mais baixo custo a longo prazo. Para a grande maioria das espécies funcionam como duplicatas de segurança. Os bancos em casa de vegetação também podem funcionar, em alguns casos, como uma duplicata de segurança da coleção principal, no entanto, da mesma forma, existe a necessidade de manutenção e limpeza, além de uma boa estrutura de iluminação e irrigação constantes.

A conservação de germoplasma via sementes é uma alternativa para grupos de plantas que se propagam mais eficientemente desta forma e cujas sementes atendem aos requisitos para sua manutenção (MALIK; CHAUDHURY, 2019). Permite resguardar a variabilidade genética, o que é muito útil para a conservação e para programas de melhoramento genético.

Dentre as diversas estratégias de conservação de sementes em laboratório, a criopreservação é uma técnica que utiliza nitrogênio líquido (-196 °C) ou sua fase de vapor (-150 °C) para manter estruturas vegetais e animais conservadas por longo período, até mesmo durante décadas (KARTHA, 1985; WANG et al., 2020). As baixas temperaturas possibilitam que o metabolismo celular seja reduzido até um nível que mantenha paralisado o desenvolvimento dos tecidos, mas que não provoque a sua morte e permita sua regeneração quando em temperatura ambiente (PANIS; LAMBARDI, 2006; LI et al., 2017; 2019; WANG et al., 2020).

Os criobancos têm se tornado uma estratégia viável para conservação de germoplasma vegetal, ainda que seja necessário o desenvolvimento de protocolos específicos (MALIK; CHAUDHURY, 2019). Além disso, materiais selvagens, cultivares, híbridos, por exemplo, ainda que se trate de uma mesma espécie, podem apresentar comportamento diferente quando conservados, o que reforça a importância de se desenvolver estudos individuais para os diferentes genótipos que se deseja conservar. Ainda assim, vários estudos são realizados para se encontrar um protocolo básico, que deve ser ajustado posteriormente para otimizar a resposta em relação a variedades, genótipos ou espécies (SOUZA et al., 2016; SILVA et al., 2017). É preciso considerar ainda, que diferentes partes da planta possuem resposta diferenciada ao processo de criopreservação, sendo que as menores estruturas

respondem melhor a tais procedimentos, visto que os conteúdos internos de água são muito menores e mais uniformes (SANTOS, 2000), implicando diretamente em uma maior eficiência no processo de desidratação.

A manutenção de qualquer estrutura vegetal em temperaturas ultrabaixas pode ocasionar a formação de cristais de gelo e o rompimento de membranas, de modo que a quantidade de água presente dentro dos tecidos é sempre um fator decisivo para manter a integridade das células quando em criopreservação (MAZUR, 1984; ENGELMANN, 2004). Além disso, também é possível que a desidratação excessiva cause danos às membranas celulares, de modo que é necessário manter um nível ótimo de água dentro das células para que, ao mesmo tempo, torne possível a regeneração após o processo de criopreservação e também diminua a formação de cristais (WALTERS et al., 2008; PRITCHARD; NADARAJAN, 2008).

Existem algumas substâncias (soluções crioprotetoras) que protegem as células de danos causados pelo resfriamento (SANTOS, 2001; ROSSI et al., 2003). Essas soluções são utilizadas para materiais mais sensíveis, como meristemas apicais, gemas axilares e calos. No entanto, para sementes ortodoxas, a utilização apenas da desidratação como técnica para prevenção de fissuras nas membranas, tem se mostrado eficiente (GONZÁLES-BENITO et al., 2009). Para sementes recalcitrantes, que não suportam desidratação em níveis muito baixos, o uso desses crioprotetores é indispensável (STEGANI et al., 2017).

Nos últimos anos, já vêm sendo realizados com sucesso alguns trabalhos sobre a criopreservação e armazenamento de sementes de Bromeliaceae (TARRÉ et al., 2007; PEREIRA et al., 2010; RODRIGUES et al., 2014; FERRARI et al., 2016). Estes autores desenvolveram protocolos para a criopreservação de sementes de vários gêneros da família, como *Alcantarea*, *Dyckia* Schult.f., *Encholirium* Mart. Ex Schult. & Schult.f., *Nidularium* Lem., *Pitcairnia* Ragel, *Vriesea* e *Wittrockia* Lindm.. Entre as metodologias utilizadas, são propostas técnicas de vitrificação com crioprotetores para tentar diminuir os danos causados pelas baixas temperaturas; de dessecação, objetivando encontrar o nível ideal de água nas células que garanta a germinação das sementes após o congelamento, além de testes para investigar as melhores condições de temperatura e luz para a germinação. É importante ressaltar, ainda, que várias espécies de Bromeliaceae são endêmicas ou microendêmicas, além de a família também possuir inúmeros representantes de interesse comercial, o que justifica o emprego de tais técnicas para a conservação da sua biodiversidade.

Inúmeras consequências são originadas a partir da destruição dos biomas brasileiros, como a fragmentação e perda de habitats, a invasão de grandes áreas por espécies exóticas que competem com as espécies nativas, erosão do solo, extinção de espécies, especialmente as endêmicas e microendêmicas, degradação de ecossistemas, dentre muitas outras (SALATI et al., 2006).

Na Bahia, os biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica apresentam ocorrência de Bromeliaceae (FLORA DO BRASIL 2020 em construção). O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil ocupando uma área de 2.036.448 Km², aproximadamente 22% em extensão territorial, superado apenas pela Amazônia (BORLAUG, 2002; AQUINO; OLIVEIRA, 2006; MMA, 2020a). No entanto, aproximadamente 50% de sua área original já foi devastada ou transformada em pastos e lavouras (MACHADO et al., 2004; MMA, 2020a). Considerando que o Cerrado é um *hotspot* de biodiversidade (MYERS et al., 2000; SILVA; BATES, 2002) são necessárias ações emergenciais para sua conservação. No entanto, não se tem dedicado tanta atenção a esse bioma quando comparado à Mata Atlântica ou à Amazônia, já que apenas cerca de 8% de seu território total é protegido por lei (MMA, 2020a). Sendo assim, é necessário realizar estudos com as espécies de ocorrência natural desse bioma, principalmente em Bromeliaceae, em relação à sua fisiologia e desenvolvimento, alta representatividade de espécies no bioma, relações ecológicas, reprodução, espécies em extinção, dentre outros.

A Mata Atlântica, principal centro de diversidade de Bromeliaceae, conta atualmente, com 29% de sua área original (MMA, 2020b) abrigando ainda duas das maiores metrópoles do Brasil (São Paulo e Rio de Janeiro). Dessa forma, os níveis mais altos de atividade antrópica estão concentrados nesse bioma, o que demanda urgência em ações de conservação e preservação das espécies de ocorrência natural. O alto nível de endemismo presente no bioma também contribui para que o mesmo seja considerado como área prioritária para conservação (FONTOURA et al., 1991; WERNECK et al., 2011). O bioma também abriga cerca de 35% de todas as espécies vegetais existentes no Brasil (MMA, 2020b).

A Caatinga ocupa 11% do território nacional (MMA, 2020c) e é o único bioma totalmente inserido no território brasileiro. Muitas das espécies encontradas não apresentam ocorrência em outros locais do mundo e, das espécies florestais ocorrentes na Caatinga, muitas são exploradas por suas propriedades medicinais, para uso em construção, ou simplesmente para conversão em agricultura e

pastagem (MMA, 2020c). Como as Bromeliaceae epífitas possuem relação ecológica direta com espécies florestais, a supressão de espécies florestais da Caatinga afeta diretamente a densidade populacional da família. Já existem muitas unidades de conservação criadas para proteger as espécies da Caatinga (MMA, 2020c), mas as atividades antrópicas ainda persistem no bioma.

A conservação de cada um desses biomas é importante, devido especialmente ao alto grau de endemismo em cada um deles. Com relação às bromélias, também se destaca a importância ecológica desse grupo, já comentada anteriormente. Das 26 espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, sete são endêmicas do Cerrado, três da Mata Atlântica e seis da Caatinga; e as outras espécies ocorrem de forma simultânea em mais de um bioma (FLORA DO BRASIL 2020 em construção).

Anatomia Foliar em Bromeliaceae

A morfoanatomia foliar em Bromeliaceae tem sido alvo de diversos estudos há vários anos (ex. HABERLANDT, 1914; SOLEREDER; MEYER, 1929; KRAUSS, 1948; TOMLINSON, 1969; ROBINSON, 1969; BENZING, 1970; 1976; BENZING et al., 1976; BENZING; RENFROW, 1980; SCATENA; SEGECIN, 2005; SOUSA et al., 2005; PROENÇA; SAJO, 2007; VERSIEUX et al., 2010; 2013; VERSIEUX; MEDEIROS, 2018). É uma das áreas onde as pesquisas são concentradas principalmente nos estudos taxonômicos com o intuito de poder diferenciar os subgrupos (espécies, gêneros, subgêneros, subfamílias) dentro de uma família tão diversa (PROENÇA; SAJO, 2007).

A posição dos estômatos (anfiestomática, hipoestomática ou epiestomática), a estrutura das escamas foliares e a estrutura do mesofilo são características que permitem, por exemplo, diferenciar as principais subfamílias dentro de Bromeliaceae (TOMLINSON, 1969). A taxonomia vegetal se beneficia diretamente dos estudos anatômicos, visto que, segundo Strehl (1983), Horres et al. (2007), Almeida et al. (2009) e Mantovani et al. (2012), por meio da anatomia foliar tem sido possível inferir sobre as linhagens filogenéticas dentro de Bromeliaceae. Outros autores também utilizam a comparação entre diferentes gêneros via anatomia foliar para delimitar gêneros ou mesmo para elaborar chaves de identificação de gêneros e espécies (SAJO et al., 1998; PROENÇA; SAJO, 2004).

Geralmente, os caracteres reprodutivos, como a estrutura da inflorescência e da flor são muito úteis para os trabalhos de taxonomia de Bromeliaceae. No entanto, muitas vezes, espécies morfologicamente semelhantes apresentam diferenças apenas em alguns aspectos florais e, já que estas são estruturas efêmeras, a anatomia foliar pode auxiliar na resolução de problemas desse tipo. Estudos anatômicos envolvendo *Tillandsia* foram realizados por alguns autores, que analisaram, além da anatomia da folha (SCATENA; SEGECIN, 2005; BATISTA et al., 2009; SILVA; SCATENA, 2011), as raízes, rizomas, escapos florais, nectários, e outras estruturas florais (SEGECIN; SCATENA, 2004a, b; MOSTI et al., 2013; HUHN et al., 2016), relacionando as características anatômicas com as adaptações ao ambiente, bem como ao hábito epifítico característico da maioria das espécies da subfamília Tillandsioideae.

Considerando os aspectos ecológicos, e devido aos diferentes ambientes em que uma mesma espécie vegetal pode ser encontrada, pode existir a plasticidade fenotípica, ou seja, as mesmas podem apresentar formatos externos ligeiramente ou muito diferentes, o que interfere diretamente nos tecidos internos (RIBEIRO et al., 2012; SANTOS et al., 2013b). Além disso, a disponibilidade de nutrientes no ambiente também pode afetar a forma como as plantas os absorvem (MARSCHNER, 1995), o que implica na composição, coloração e organização estrutural dos tecidos, mudando seu formato, tamanho e quantidade (ROSOLEM; LEITE, 2007; CASTRO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012; SANTOS et al., 2013b, VIEIRA et al., 2017).

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, C. R.; FIGUEIREDO, A. M. G.; SILVA, B. C.; TICIANELLI, R. B.; FIGUEIRA, R. C. L.; NIEVOLA, C. C.; ALVES, E. S.; DOMINGOS, M.; RIBEIRO, A. P. Utilização da bromélia *Tillandsia usneoides* L. no biomonitoramento da poluição atmosférica na região metropolitana de São Paulo – SP, Brasil. **International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2013**, Recife, p. 1-9, 2013.

ALMEIDA, V. R.; COSTA, A. F.; MANTOVANI, A.; GONÇALVES-ESTEVEZ, V.; ARRUDA, R. C. O.; FORZZA, R. C. Morphological phylogenetics of *Quesnelia* (Bromeliaceae, Bromelioideae). **Systematic Botany**, Laramie, v. 34, n. 2, p. 660-672, 2009.

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

AQUINO, F. G.; OLIVEIRA, M. C. **Reserva legal do bioma Cerrado: uso e preservação**. Planaltina-DF: Embrapa, 2006. 25 p.

BARFUSS, M. H. J.; TILL, W.; LEME, E. M. C.; PINZÓN, J. P.; MANZANARES, J. M.; HALBRITTER, H.; SAMUEL, R.; BROWN, J. K. Taxonomic revision of Bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. **Phytotaxa**, Auckland, v. 279, n. 1, p. 1-97, 2016.

BATISTA, E. E. K.; PREUSSLER, K. H.; AZEVEDO, R.; GUIMARAES, A. T. B.; GODOI, A. F. L.; GODOI, R. H. H. M.; MARANHO, L. T. Efeitos da poluição atmosférica na estrutura da folha de *Tillandsia stricta* Sol. ex Sims, BROMELIACEAE, Curitiba, PR - BRASIL. **Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil**, São Lourenço, MG. 13 a 17 de Setembro de 2009.

BEDREGAL, P.; TORRES, B.; MENDOZA, P.; UBILLÚS, M.; HURTADO, J.; MAZA, I.; ESPINOZA, R. El uso de *Usnea* sp. y *Tillandsia capillaris*, como bioindicadores de la contaminación ambiental em La ciudad de Lima, Perú. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, Lima, v. 75, n. 4, p. 479-487, 2009.

BENZING, D. H. **Bromeliaceae: Profile an adaptive radiation**. University Press. Cambridge, MA, 2000, 290 p.

BENZING, D. H. Foliar permeability and the absorption of minerals and organic nitrogen by certain tank bromeliads. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 131, n. 1, p. 23-31, 1970.

BENZING, D. H.; HENDERSON, K.; KESSEL, B.; SULAK, J. The absorptive capacities of bromeliad trichomes. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 63, n. 7, p. 1009-1014, 1976.

BENZING, D. H.; RENFROW, A. The mineral nutrition of Bromeliaceae. **Botanical Gazete**, Chicago, v. 135, n. 4, p. 281-288, 1974.

BENZING, D.H. Bromeliad trichomes: structure, function and ecological significance. **Selbyana**, Sarasota, v. 1, n. 4, p. 330-348, 1976.

BENZING, D. H.; RENFROW, A. The nutritional dynamics of *Tillandsia circinnata* in Southern Florida and the origin of the "air plant" strategy. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 141, n. 2, p.165-172, 1980.

BORLAUG, N. E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. In: R. BAILEY, R. (Ed.). **Global warming and other eco-myths**. Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA, 2002, pp. 29-60.

BRIGHIGNA, L.; PAPINI, A.; MOSTI, S.; CORNIA, A.; BOCCHINI, P.; GALLETTI, G. The use of tropical bromeliads (*Tillandsia* spp.) for monitoring atmospheric pollution in the town of Florence, Italy. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v. 50, n. 2, p. 577-584, 2002.

BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Stigma structure and variation in Bromeliaceae – neglected taxonomic characters. **Brittonia**, New York, v. 36, n. 4, p. 364-374, 1984.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009, 234 p.

CHOMTHONG, M.; GRIFFITHS, H. Model approaches to advance crassulacean acid metabolism system integration. **The Plant Journal**, Oxford, v. 101, n. 4, p. 951-963, 2020.

COSTA, F. C. B.; CHIAVEGATTO, B.; FURTADO, S. G.; BARBOSA, D. E. F.; MENINI NETO, L. Espécies de *Tillandsia* L. (Tillandsioideae, Bromeliaceae) como bioindicadoras de poluição atmosférica. **Ces Revista**, Juiz de Fora, v. 33, n. 1, p. 235-257, 2019.

CRAYN, D. M.; WINTER, K.; SMITH, J. A. C. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Washington, v. 101, n. 10, p. 3703-3708, 2004.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? II. Effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation-tolerance in coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 238, p. 653-657, 1991.

ENGELMANN, F. Plant cryopreservation: progress and prospects. **In vitro Cell & Developmental Biology – Plant**, New York, v. 40, n. 5, p. 427-433, 2004.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, New York, v. 47, n. 1, p. 5-16, 2011.

FERRARI, E. A. P.; COLOMBO, R. C.; FARIA, R. T.; TAKANE, R.

J. Cryopreservation of seeds of *Encholirium spectabile* Martius ex Schultes f. by the vitrification method. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 47, n. 1, p.172-177, 2016.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. **Bromeliaceae**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB66>>. Acesso em: 20 Mar. 2020.

FONTOURA, T.; COSTA, A.; WENDT, T. Preliminary checklist of the Bromeliaceae of Rio de Janeiro State, Brazil. **Selbyana**, Sarasota, v. 12, n. 1, p. 5-45, 1991.

FORZZA, R. C.; COSTA, A. F.; LEME, E. M. C.; VERSIEUX, L. M.; WANDERLEY, M. G. L.; LOUZADA, R. B.; MONTEIRO, R. F.; JUDICE, D. M.; FERNANDEZ, E. P.; BORGES, R. A. X.; PENEDO, T. S. A.; MONTEIRO, N. P.; MORAES, M. A. Bromeliaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson & Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 315-397, 2013.

GIVNISH, T. J.; BARFUSS, M. H. J.; EE, B. V.; RIINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; GONSISKA, P. A.; JABAILY, R. S.; CRAYN, D. M.; SMITH, J. A. C.; WINTER, K.; BROWN, G. K.; EVANS, T. M.; HOLST, B. K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical

biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, New York, v. 98, n. 5, p. 872-895, 2011.

GIVNISH, T.J.; MILLAM, K.C.; BERRY, P.E.; SYTSMA, K.J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. **Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany**, Claremont, v. 23, n. 1, p. 3-26, 2007.

GONZÁLEZ-BENITO, M. E.; AGUILAR, N.; ÁVILA, T. Germination and embryo rescue from *Passiflora* species seeds post-cryopreservation. **Cryoletters**, London, v. 30, n. 2, p. 142-147, 2009.

GOUDA, E. J.; BUTCHER, D. (cont. Atualizado) **Encyclopaedia of Bromeliads**. Disponível em: <<http://bromeliad.nl/bromNames/>>. University Botanic Gardens, Utrecht. Acesso em: 20 Mar. 2020.

HABERLANDT, G. **Physiological Plant Anatomy (trans. from the fourth German edition by Montagu Drummond)**. Macmillan: London, 1914, 777 p.

HEYWOOD, V. H.; IRIONDO, J. M. Plant conservation: old problems, new perspectives. **Biological conservation**, Amsterdam, v. 113, n. 3, p. 321-335, 2003.

HORRES, R.; SCHULTE, K.; WEISING, K.; ZIZKA, G. Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae) – Evidence from molecular and anatomical studies. **Aliso**, Claremont, v. 23, n. 1, p. 27-43, 2007.

HUHN, S. A.; NOGUEIRA, F. M.; FAGUNDES, N. F.; MARIATH, J. E. A. Morphoanatomy of the ovary and ovule in Bromeliaceae subfamily Tillandsioideae and its systematic relevance. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, n. 3, p. 343-361, 2016.

KARTHA, K. K. Meristem culture and germplasm preservation. In: KARTHA, K.K. (Ed.) **Cryopreservation of plant cells and organs**. Boca Raton, Florida, CRC Press, pp. 115-13, 1985.

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

KRAUSS, B. H. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. II. The leaf. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 110, n. 3, p. 333-404, 1948.

LADINO, G.; OSPINA-BAUTISTA, F.; VERÓN, J. E.; JERABKOVA, L.; KRATINA, P. Ecosystem services provided by bromeliad plants: A systematic review. **Ecology and Evolution**, Oxford, v. 9, n. 12, p. 7360-7372, 2019.

LI, J. W.; OZUDOGRU, E. A.; LI, J.; WANG, M. R.; BI, W. L.; LAMBARDI, M.; WANG, Q. C. Cryobiotechnology of forest trees: recent advances and future prospects. **Biodiversity and Conservation**, Dordrecht, v. 27, n. 1, p. 795-814, 2017.

- Li, J. W.; Zhang, X. C.; Wang, M. R.; Bi, W. L.; Faisal, M.; Silva, J. A. T.; Volk, J. M.; Wang, Q. C. Development, progress and future prospects in cryobiotechnology of *Lilium* spp. **Plant Methods**, Heidelberg, v. 15, n. 125, p. 1-12, 2019.
- MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P.; CALDAS, E.; GONÇALVES, D.; SANTOS, N.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro**. Relatório Técnico, Conservation International Brasil, Brasília, 2004.
- MALDONADO, M. B.; LOMÁSCOLO, S. B.; VÁZQUEZ, D. P. The importance of pollinator generalization and abundance for the reproductive success of a generalist plant. **Plos One**, San Francisco, v. 10, e75482, 2013.
- MALIK, S. K.; CHAUDHURY, R. Cryopreservation techniques for conservation of tropical horticultural species using various explants. In: RAJASEKHARAN, P.; RAO, V. (Eds.). **Conservation and Utilization of Horticultural Genetic Resources**. Singapore: Springer, pp. 579-594, 2019.
- MANTOVANI, A.; VENDA, A. K. L.; ALMEIDA, V. R.; COSTA, A. F.; FORZZA, R. C. Leaf anatomy of *Quesnelia* (Bromeliaceae): implications for the systematics of core bromelioids. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 298, n. 4, p. 787-800, 2012.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press, San Diego, 1995, 889 p.
- MARTINELLI, G.; VIEIRA, C. M.; GONZALEZ, M.; LEITMAN, P.; PIRATININGA, A.; COSTA, A. F.; FORZZA, R. C. Bromeliaceae da Mata Atlântica brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 1, p. 209-258, 2008.
- MAZUR, P. Freezing of living cells: Mechanisms and implications. **American Journal of Physiology – Cell Physiology**, Bethesda, v. 247, n. 3, p. 125-142, 1984.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Caatinga**. 2020c. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biomas/caatinga.html>. Acesso 13 Mar. 2020.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Cerrado**. 2020a. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>. Acesso 13 Mar. 2020.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Mata Atlântica**. 2020b. Disponível em: https://www.mma.gov.br/biomas/mata-atl%C3%A2ntica_emdesenvolvimento. Acesso 20 Mar. 2020.
- MOSTI, S.; FRIEDMAN, C. R.; PACINI, E.; BRIGHIGNA, L.; PANINI, A. Nectary ultrastructure and secretory modes in three species of *Tillandsia* (Bromeliaceae) that have different pollinators. **Botany**, Ottawa, v. 91, n. 11, p. 786-798, 2013.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, p. 853-845, 2000.

OLIVEIRA, K. S.; ALOUFA, M. A. I. Influência de substratos na germinação de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan em condições de casa de vegetação. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1073-1078, 2012.

PANIS, B.; LAMBARDI, M. Status of cryopreservation technologies in plants (crops and forest trees). In: RUANE, J.; SONNINO, A. (Eds.). **The role of biotechnology in exploring and protecting agricultural genetic resources**. Rome: FAO, pp. 61–78, 2006.

PEREIRA, C.; CUQUEL, F. L.; PANOBIANCO, M. Germinação e armazenamento de sementes de *Nidularium innocentii* (Lem.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 36-41, 2010.

PIAZZETTA, K. D.; RAMSDORF, W. A.; MARANHO, L. T. Use of airplant *Tillandsia recurvata* L., Bromeliaceae, as biomonitor of urban air pollution. **Aerobiologia**, Bologna, v. 35, n. 1, p. 125-137, 2019.

PIERCE, S.; MAXWELL, K.; GRIFFITHS, H.; WINTER, K. Hydrophobic trichome layers and epicuticular wax powders in Bromeliaceae. **American Journal of Botany**, Philadelphia, v. 88, n. 8, p. 1371-1389, 2001.

PIMENTEL, C. **Metabolismo de carbono na agricultura tropical**. Seropédica: Edur, v. 9, 1998, 150 p.

PONTES, R. A. S.; AGRA, M. F. Flora da Paraíba, Brasil: *Tillandsia* L. (Bromeliaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 1, p. 47-61, 2006.

PRITCHARD, H. W.; NADARAJAN, J. Cryopreservation of orthodox (desiccation tolerant) seed. In: Cryopreservation of recalcitrant (e.e. desiccation-sensitive) seed. In: REED, B. M. (Ed.). **Plant cryopreservation: a practical guide**. New York: Springer. pp. 485-501, 2008.

PRIYADARSHAN, P. M. Germplasm Conservation. In: PRIYADARSHAN, P. M. **Plant breeding: Classical to Modern**. Springer, Singapore, pp. 49-72, 2019.

PROENÇA, S. L.; SAJO, M. G. Anatomia foliar de bromélias ocorrentes em áreas de cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 657-673, 2007.

PROENÇA, S.L. & SAJO, M.G. Estrutura foliar de espécies de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 319-331, 2004.

QUEIROZ, J. A.; QUIRINO, Z. G. M.; LOPES, A. V.; MACHADO, I. C. Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. **Journal of Arid Environments**, Holanda, v. 125, p. 21-30, 2016

QUEZADA, I. M.; GIANOLI, E.; SALDAÑA, A. Crassulacean acid metabolism and distribution range in Chilean Bromeliaceae: Influences of climate and phylogeny. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 45, n. 7, p. 1541-1549, 2018

RAJPUROHIT, D.; JHANG, T. *In situ* and *ex situ* conservation of plant genetic resources and traditional knowledge. In: SALGOTRA, R. K.; GUPTA, B. B. (Eds.)

Plant Genetic Resources and Traditional Knowledge for Food Security.

Springer: Singapore, pp. 137-162, 2015.

RATSIRARSON, J.; SILANDER, J. A. Structure and dynamics in *Nepenthes madagascariensis* pitcher-plant micro-communities. **Biotropica**, Oxford, v. 28, n. 2, p. 218-227, 1996.

RAZDAN, M. K. **Introduction to plant tissue culture**. 2 ed. Enfield: Science Publishers, pp. 287-306. 2003.

RIBEIRO, M. N. O.; CARVALHO, S. P.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 43, n. 2, p.354-361, 2012.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science & Technology**, Bassersdorf, v. 1, p. 499-514, 1973.

ROBINSON H. A monograph on foliar anatomy of the genera *Connelia*, *Cottendorfia*, and *Navia* (Bromeliaceae). **Smithsonian Contributions to Botany**. Washington, v. 2, p. 1-41, 1969.

RODRIGUES, A. R. P.; FORZZA, R. C.; ANDRADE, C. S. Physiological characteristics underpinning successful cryopreservation of endemic and endangered species of Bromeliaceae from the Brazilian Atlantic Forest. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 176, n. 4, 567-578, 2014.

ROSOLEM, C. A.; LEITE, V. M. Coffee leaf and stem anatomy under boron deficiency. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 477-483, 2007.

ROSSI, T. C.; PAPA, F. O.; SANTOS, T. B.; MACEDO, L. P.; ALVARENGA, M. A.; MELO, C. M.; DELL'AQUA JUNIOR, J. A. Efeito da utilização de diferentes crioprotetores e suas associações no processo de congelamento de sêmen equino com meio MP50. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n. 3, p. 350-352, 2003.

SAJO, M. G.; MACHADO, S. R.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Aspectos estruturais de folhas de bromélias e suas implicações no agrupamento de espécies. In: LEME, E. M. C. (Ed.). **Bromélias da Mata Atlântica: Canistropsis**. Rio de Janeiro: Salamandra Consultoria Editorial Ltda, pp. 102-111, 1998.

SALATI, E.; SANTOS, Â, A.; KLABIN, I. Relevant environmental issue. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 20, n. 56, p. 107-127, 2006.

SANTOS, F.C; TECHIO, V.H; FREITAS, A.S; CASTRO, E.M; DAVIDE, L.V; SOUZA SOBRINHO, F. Adaptive leaf anatomical characteristics of *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae) genotypes in diferente environments. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 35, n. 4, p. 579-58, 2013b.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação de germoplasma vegetal. **Biotechnology Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 20, p. 60-65, 2001.

- SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, p. 70-84, 2000.
- SANTOS, T. O.; VIEIRA, R.; SILVA FILHO, C. A.; HAZIN, C. A.; VALENTIM, E. Quantificação de elementos químicos associados ao tráfego de veículos em bromélias atmosféricas transplantadas na Região Metropolitana do Recife. **Scientia Plena**, São Cristóvão, v.9, n. 8, p. 1-8, 2013a.
- SCATENA, V. L.; SEGECIN, S. Anatomia foliar de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 635-649, 2005.
- SEGECIN, S.; SCATENA, V. L. Anatomia de escapos de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais do Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 515-525, 2004a.
- SEGECIN, S.; SCATENA, V. L. Morfoanatomia de rizoma e raízes de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, PR, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 253-260, 2004b.
- SILVA, I. L.; SILVA, L. A. O.; COELHO, L. C. B. B. The Brazilian Caatinga Biome and Its Biotechnological Potential. In: TEODOR, R. (Ed.). **Advances in Applied Science and Technology**, cap. 11, Book Publisher International, pp. 123-142, 2019.
- SILVA, I. V.; SCATENA, V. L. Anatomia foliar de espécies de Bromeliaceae (Poales) da Amazônia, Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v. 9, n. 2, p. 225-240, 2011.
- SILVA, J. M. C.; BATES, J. M. Biogeographic patterns and conservation in the South American Cerrado: a tropical savanna hotspot. **BioScience**, Uberlândia, 52, n. 3, p. 225-233, 2002.
- SILVA, R. L.; FERREIRA, C. F.; LEDO, C. A. S.; SOUZA, E. H.; SILVA, P. H.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, F. V. D. Viability and genetic stability of pineapple germplasm after ten years of *in vitro* conservation. **Plant Cell Culture and Organ Culture**, Cham, v. 127, n. 1, p. 123-133, 2016.
- SILVA, R. L.; SOUZA, E. H.; VIEIRA, L. J.; PELACANI, C. R.; SOUZA, F. V. D. Cryopreservation of pollen of wild pineapple accessions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 219, p. 326-334, 2017.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Bromelioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, New York. v. 14, n. 3, p. 1493-2142, 1979.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, New York. v. 14, n. 1, p. 1-658, 1974.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, New York. v. 14, n. 2, p. 663-1492, 1977.
- SOLEREDER, H.; MEYER, F. J. Bromeliaceae. In: MEYER, F. J. (ed.) **Systematische Anatomie der Monokotyledonen**. Gebrüder Borntraeger: Berlin, Heft IV, pp.80-129. 1929.

- SOUSA, G. M.; ESTELITA, M. E. M.; WANDERLEY, M. G. L. Leaf anatomy of Brazilian species of *Aechmea* subgenus *Chevaliera* (Gaudich. ex Beer) Baker, Bromelioideae-Bromeliaceae. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 603-613, 2005.
- SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; CARVALHO COSTA, M. A. P.; COSTA, D. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, London. v. 59, n. 4, p. 1357-1376, 2012.
- SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, E. H.; NASCIMENTO, W. S.; SOUZA, G. K. B. Banco de germoplasma de bromélias. In: 1 Simpósio da Rede de Recursos Genéticos Vegetais do Nordeste, 2013, Cruz das Almas. **Rede de Recursos Genéticos Vegetais do Nordeste: Conservando para o futuro**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, v. 25. pp. 84-85. 2013.
- SOUZA, F. V. D.; KAYA, E.; VIEIRA, L. J.; SOUZA, E. H.; AMORIM, V. B. O.; SKOGERBOE, D.; MATSUMOTO, T.; ALVES, A. A. C.; LEDO, C. A. S.; JENDEREK, M. M. Droplet-vitrification and morphohistological studies of cryopreserved shoot tips of cultivated and wild pineapple genotypes. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Cham, v. 124, p. 351-360, 2016.
- SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H.; SENA NETO, A. R.; MARCONCINI, J. M.; ASSIS, S. A. ; CUNHA, G. A. P. Production for Other Uses. In: Sanewski, G. M.; Bartholomew, D.; Paull, R. E. (Org.). **The Pineapple: Botany, Production and Uses**. 2 ed. Abingdon: CABI International, pp. 222-232, 2018.
- STEFANO, M; PAPINI, A.; BRIGHIGNA, L. A new quantitative classification of ecological types in the bromeliad genus *Tillandsia* (Bromeliaceae) based on trichomes. **Revista de Biologia Tropical**, San Jose, v. 56, n. 1, p. 191-203, 2008.
- STEGANI, V.; ALVES, G. A. C.; BERTONCELLI, D. J.; FARIA, R. T. Criopreservação de sementes de rainha do abismo (*Sinningia leucotricha*). **Revista Ornamental Horticulture**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 15-21, 2017.
- STREHL, T. Forma, distribuição e flexibilidade dos tricomas foliares usados na filogenia de Bromeliáceas. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 31, n. 1, p. 105-119, 1983.
- TARRÉ, E.; PIRES, B. B. M; GUIMARÃES, A. P. M.; CARNEIRO, L. A.; FORZZA, R. C. ; MANSUR, E. Germinability after desiccation, storage and cryopreservation of seeds from endemic *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. and *Dyckia* Schult. & Schult.f. species (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 777-783, 2007.
- TOMLINSON, P. B. Comelinales - Zingiberales. In: METCALFE, C. R. (Ed.). **Anatomy of the monocotyledons: III**. Oxford: Clarendon Press, pp. 193-294, 1969.
- TSUDA, É. T.; CASTELLANI, T. T. *Vriesea friburgensis*: A natural trap or a nurse plant in coastal sand dunes? **Austral Ecology**, Windsor, v. 41, n. 3, p. 273-281, 2015.

- VARASSIN, I. G., SAZIMA, M. Recursos de Bromeliaceae utilizados por beija-flores e borboletas em Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, Santa Teresa, v. 11/12, n. 1, p. 57-70, 2000.
- VEIGA, R. F. A.; BARBOSA, W.; TOMBOLATO, A. F. C.; VALLS, J. F. M. Bancos de Germoplasma: importância e organização. In: COSTA, A. M.; SPEHAR, C. R.; SERENO, J. R. (Eds.). **Conservação de Recursos Genéticos no Brasil**, ed. 1, E-book. Brasília: Embrapa, pp. 104-125, 2012.
- VERSIEUX, L. M., VASCONCELLOS, N.; MARTINELLI, G. A new species of *Tillandsia* from Mato Grosso do Sul, Brazil, with notes on leaf anatomy. **Systematic Botany**, Laramie, v. 38, n. 1, p. 1-7, 2013.
- VERSIEUX, L. M.; LOUZADA, R. B.; VIANA, P. L.; MOTA, N.; WANDERLEY, M. G. L. An illustrated checklist of Bromeliaceae from Parque Estadual do Rio Preto, Minas Gerais, Brazil, with notes on phytogeography and one new species of *Cryptanthus*. **Phytotaxa**, Auckland, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2010.
- VERSIEUX, L. M.; MEDEIROS, A. S. M. Leaf anatomical characterization of *Guzmania* Ruiz & Pav. and *Mezobromelia* L.B.Sm. (Tillandsioideae, Bromeliaceae). **Journal of the Bromeliad Society**, Orlando, v. 67, n. 1, p. 8-26, 2018.
- VIEIRA, E. A.; SILVA, K. R.; ORIANIB, A.; MOROC, C. F.; BRAGA, M. R. Mechanisms of desiccation tolerance in the bromeliad *Pitcairnia burchellii* Mez: biochemical adjustments and structural changes. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 121, p. 21-30, 2017.
- WALTERS, C.; WESLEY-SMITH, J.; CRANE, J.; HILL, L. M.; CHMIELARZ, P.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Cryopreservation of recalcitrant (i.e. desiccation-sensitive) seed. In: REED, B. M. (Ed.). **Plant cryopreservation: a practical guide**. New York: Springer. pp. 465-484, 2008.
- WANG, M., LAMBARDI, M., ENGELMANN, F.; PATHIRANA, R.; PANIS, B.; VOLK, G. M.; WANG, Q. C. Advances in cryopreservation of in vitro-derived propagules: technologies and explant sources. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11240-020-01770-0>> Acesso em: 26 Mar. 2020.
- WERNECK, M. S.; SOBRAL, M. E. G.; ROCHA, C. T. V.; LANDAU, E. C.; STEHMANN, J. R. Distribution and Endemism of Angiosperms in the Atlantic Forest. **Natureza e Conservação**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 188-193, 2011.
- WITHERS, L. A.; WILLIAMS, J. T. Conservação in vitro de recursos genéticos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: SPI/EMBRAPA, v.1. pp. 297-330, 1998.

CAPÍTULO 1

CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIES DE *Tillandsia* (Bromeliaceae) OCORRENTES NA BAHIA, BRASIL¹

¹Capítulo a ser formatado e submetido ao periódico científico Scientia Horticulturae.

CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIES DE *Tillandsia* (Bromeliaceae) OCORRENTES NA BAHIA, BRASIL

RESUMO: *Tillandsia* (Bromeliaceae) possui alto potencial ornamental devido às suas inflorescências vistosas e altamente procuradas para comercialização. O alto grau de endemismo e o extrativismo predatório tem causado a extinção ou a redução populacional de muitas espécies. Tudo isso torna necessário realizar estudos de conservação para essas espécies, a fim de resguardar a variabilidade genética ainda existente, e para isso, uma alternativa bastante viável é a conservação de sementes. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar duas estratégias de conservação de sementes (freezer a -5 °C e criopreservação a -196 °C), em 20 espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia visando a obtenção de um protocolo que possa garantir e resguardar a variabilidade genética. Inicialmente foram avaliados a morfometria, massa de mil sementes e conteúdo de água de todas as espécies. Para os ensaios de germinação e dessecação foram utilizadas quatro espécies (cada espécie representando um subgênero ocorrente na Bahia), dois ambientes de cultivo (MS/2 e papel Germitest), e três temperaturas (20, 25 e 30°C), com quatro repetições de 25 sementes por tratamento. Após estabelecidas a melhor temperatura e ambiente de cultivo foram realizados os ensaios de dessecação em sílica gel ativada por 3, 6, 9 e 12 horas. A avaliação da germinação foi a mesma adotada no ensaio anterior. Após seleção do melhor resultado dos ensaios de germinação (papel Germitest e incubação a 30°C) e dessecação (3 h em sílica), foi estabelecido os ensaios de conservação, utilizando-se dois ambientes (freezer a -5 °C e nitrogênio líquido a -196 °C) para todas as 20 espécies. Foram realizadas avaliações diárias por aproximadamente 20 dias, e foi contabilizada a porcentagem de sementes germinadas e o índice de velocidade de germinação (IVG). A análise de variância evidenciou que as 20 espécies se comportaram de forma diferente entre si, a partir dos dois ambientes de conservação e ao longo das avaliações (1, 7, 30 e 180 dias). Todas as espécies apresentaram germinação superior a 75% com uma média de 90 %, exceto para *T. tricholepis* (45%) e *T. tenuifolia* (60%). Em relação ao IVG, os valores variaram de 3 a 6, com os menores valores registrados em *T. tricholepis* e *T. tenuifolia*, com índices de 3 a 3,5. As menores porcentagens de germinação foram em *T. stricta* 2 (25%) e *T. tricholepis* (45%), independente da temperatura e tempo de avaliação. O menor IVG foi observado em *T. stricta* 2 com valor máximo de 2,5 aos 180 dias em nitrogênio líquido. Aos 180 dias pode-se observar uma redução na porcentagem de germinação e no IVG quando as sementes foram conservadas em geladeira nas espécies *T. juncea*, *T. paraensis*, *T. polystachia*, *T. streptocarpa*, *T. streptocarpa*, *T. chapeuensis*, *T. geminiflora*, *T. globosa*, *T. tenuifolia* var. *vaginata*, chegando a ausência de germinação e IVG zero em *T. stricta* 2. Pode-se afirmar que o armazenamento em nitrogênio líquido é um método promissor para a conservação de sementes das 20 espécies de *Tillandsia* estudadas, quando dessecadas a um teor de água de aproximadamente 7%. Este método de conservação deve ser eficaz para outras espécies de *Tillandsia*, e sendo assim, nossos resultados apoiam o estabelecimento de um criobanco de *Tillandsia*, principalmente para espécies endêmicas e vulneráveis a extinção.

Palavras-chave: Tillandsioideae, Criopreservação, Nitrogênio Líquido, Desidratação, Bromélias, Plantas Ornamentais

SEED CONSERVATION OF *Tillandsia* SPECIES (Bromeliaceae) OCCURRENT IN BAHIA STATE, BRASIL

ABSTRACT: *Tillandsia* (Bromeliaceae) has high ornamental potential due to its showy and highly sought after inflorescences. The high degree of endemism and predatory extractivism has caused the extinction or reduction of many species. All this makes it necessary to conduct conservation studies for these species in order to safeguard the genetic variability that still exists, and for this, a very viable alternative is the conservation of seeds. Thus, the objective of the work was to evaluate two seed conservation strategies (freezer at -5 oC and cryopreservation at -196 oC), in 20 *Tillandsia* species occurring in Bahia in order to obtain a protocol that can guarantee and safeguard genetic variability. Initially, the morphometry, mass of a thousand seeds and water content of all species were evaluated. For germination and desiccation tests, four species (each species representing a subgenus occurring in Bahia), two cultivation environments (MS/2 and Germitest paper), and three temperatures (20, 25 and 30°C) were used, with four repetitions of 25 seeds per treatment. After establishing the best temperature and growing environment, silica gel drying tests were performed for 3, 6, 9 and 12 hours. The germination evaluation was the same as in the previous test. After selecting the best result of germination (Germitest paper and incubation at 30°C) and desiccation (3 h on silica), the conservation trials were established, using two environments (freezer at -5 oC and liquid nitrogen at -196 oC) for all 20 species. Daily evaluations were performed for approximately 20 days, and the percentage of germinated seeds and the germination velocity index (IVG) were counted. The analysis of variance showed that the 20 species behaved differently from each other, from the two conservation environments and throughout the assessments (1, 7, 30 and 180 days). All species presented germination higher than 75% with an average of 90%, except for *T. tricholepis* (45%) and *T. tenuifolia* (60%). Regarding IVG, the values varied from 3 to 6, with the lowest values recorded for *T. tricholepis* and *T. tenuifolia*, with indexes from 3 to 3.5. The lowest germination percentages were in *T. stricta* 2 (25%) and *T. tricholepis* (45%), regardless of temperature and time of evaluation. The lowest IVG was observed in *T. stricta* 2 with a maximum value of 2.5 at 180 days in liquid nitrogen. At 180 days a reduction in germination percentage and in IVG can be observed when the seeds were conserved in refrigerator in the species *T. juncea*, *T. paraensis*, *T. polystachia*, *T. streptocarpa*, *T. chapeuensis*, *T. geminiflora*, *T. globosa*, *T. tenuifolia* var. *vaginata*, reaching the absence of germination and IVG zero in *T. stricta* 2. It can be stated that liquid nitrogen storage is a promising method for the conservation of seeds of the 20 *Tillandsia* species studied, when dried at a water content of approximately 7%. This conservation method should be effective for other *Tillandsia* species, and therefore our results support the establishment of a *Tillandsia* cryobank, mainly for endemic and endangered species.

Keywords: Tillandsioideae, Cryopreservation, Liquid Nitrogen, Dehydration, Bromeliads, Ornamental Plants

INTRODUÇÃO

O gênero *Tillandsia* L. é o mais representativo dentre as Bromeliaceae Juss., com aproximadamente 746 espécies (GOUDA et al., 2020), distribuídas em sete subgêneros (BARFUSS et al., 2016). Na Bahia são registradas 26 espécies de quatro subgêneros, *Anoplophytum* (Beer) Baker, *Diaphoranthema* (Beer) Baker, *Phytarrhiza* (Vis.) Baker e *Tillandsia* (G. Nicholson) e são encontradas nos biomas Caatinga, Mata Atlântica e Cerrado (FLORA DO BRASIL 2020 em construção). O alto grau de endemismo combinado com o extrativismo predatório e a destruição de habitats naturais tem colocado em extinção muitas das espécies de *Tillandsia* e outras bromélias, o que justifica o desenvolvimento de métodos para a conservação dessas espécies.

A conservação de germoplasma permite resguardar a variabilidade genética de espécies de importância ecológica, econômica, ou em perigo de extinção, principalmente devido às ações antrópicas. A conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais é uma importante estratégia para resguardar a variabilidade genética de diversas espécies (KARTHA, 1985; ENGELMANN, 1991; WITHERS; WILLIAMS, 1998), já que permite que o material genético de interesse esteja disponível para uso imediato para pesquisa nas instituições e empresas que os mantêm. O estabelecimento de bancos de germoplasma é essencial para a conservação, para subsidiar programas de melhoramento genético auxiliando no desenvolvimento de novas cultivares, e na propagação de espécies (SILVA et al., 2016).

A criopreservação também permite conservar material genético, mas a longo prazo e em espaço reduzido. Trata-se de manter armazenado, em nitrogênio líquido (-196 °C) ou em sua fase de vapor (-150 °C), partes vegetativas como calos, ápices caulinares, gemas, grãos de pólen e sementes. As baixas temperaturas permitem que o metabolismo das células seja reduzido até um nível que mantenha paralisado o desenvolvimento dos tecidos, mas que permita sua regeneração quando em temperatura ambiente (KARTHA, 1985, PANIS; LAMBARDI, 2006). Em se tratando de conservar sementes, o aspecto mais importante a ser considerado é o conteúdo de água ideal, que pode ser fator decisivo na manutenção da viabilidade das sementes após o processo de congelamento, e conseqüentemente, interferir na porcentagem final de sementes regeneradas. Rodrigues et al. (2014), que estudaram dez espécies de Bromeliaceae, incluindo três espécies de

Tillandsioideae, indicam que todas as espécies possuem comportamento ortodoxo, sendo necessário a desidratação das sementes antes dos procedimentos de conservação.

As sementes são estruturas reprodutivas ideais para armazenar a variabilidade genética de uma determinada espécie, garantindo a conservação de um pool gênico (GOSLING, 2003; SILVA et al., 2020). Assim, estudar diferentes métodos de conservação de sementes é uma forma de contribuir para a preservação das espécies e, em alguns casos, de resgatá-la de uma situação de vulnerabilidade e ameaça. Alguns trabalhos envolvendo a conservação de sementes de espécies de Bromeliaceae, em temperaturas ultrabaixas, estão disponíveis na literatura, a exemplo de Tarré et al. (2007), Rodrigues et al. (2014), Ferrari et al. (2016) e Silva et al. (2020).

Tarré et al. (2007) e Ferrari et al. (2016) realizaram estudos sobre a criopreservação de espécies de *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. e *Dyckia* Schult. & Schult. f., e observaram resultados de germinação semelhantes ou superiores aos do tratamento controle após um ano de conservação. Rodrigues et al. (2014) estudaram principalmente o conteúdo ótimo de água nas sementes em dez espécies de bromélias endêmicas e ameaçadas de extinção. Esses autores relatam que conteúdo de água abaixo de 7 % afeta a viabilidade das sementes e que o conteúdo ideal para a criopreservação é em torno de 6 a 7 %. Não existem registros para o gênero *Tillandsia* e por isso esse estudo é considerado inédito.

Diante do exposto, esse trabalho teve por objetivo, avaliar a conservação de sementes em freezer a -5 °C e criopreservação a -196 °C, de 20 espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia de diferentes subgêneros, a fim de se obter um protocolo que possa garantir e resguardar a variabilidade genética dessas espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Foram estudadas 20 espécies de *Tillandsia* ocorrentes no Estado da Bahia, Brasil (Tabela 1). As sementes foram coletadas de frutos maduros em populações naturais de forma aleatória, mantendo a variabilidade dentro das populações. Exemplares das espécies foram coletados e incorporados no Herbário do Recôncavo (HURB) (Tabela 1) e no Banco de Germoplasma de Bromélias situado na Embrapa Mandioca e Fruticultura, no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil e que pertence ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

As coletas foram realizadas conforme autorização do SISBIO nº: 69870-1 e as atividades realizadas estão devidamente cadastradas no SISGEN sob a autorização nº: A9E9F8D.

Morfometria e massa de 1.000 sementes

Os apêndices plumosos foram removidos com auxílio de uma tesoura para evitar a proliferação de microrganismos. Foi contabilizado o número de sementes por cápsula, utilizando-se três cápsulas por espécie de diferentes plantas. Foram mensurados o comprimento e espessura de 25 sementes, a partir de imagens obtidas em estereomicroscópio Leica EZ4 D (Leica, Wetzlar, Alemanha) com auxílio do programa ImageJ 2 (RUEDEEN, 2017). A massa de 1.000 sementes foi determinada utilizando balança analítica de precisão, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Tabela 1. Espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil, utilizadas no presente estudo.

Espécie	Subgênero	Município de coleta	Bioma	HURB
<i>T. bulbosa</i> Hook.f.	<i>Tillandsia</i>	Ilhéus	Mata Atlântica/ Restinga	25395
<i>T. juncea</i> (Ruiz & Pav.) Poir.	<i>Tillandsia</i>	Santa Terezinha	Caatinga	22220
<i>T. paraensis</i> Mez	<i>Tillandsia</i>	Entre Rios	Mata Atlântica	25754
<i>T. polystachia</i> (L.) L.	<i>Tillandsia</i>	Milagres	Caatinga	22131
<i>T. pruinosa</i> Sw.	<i>Tillandsia</i>	Brejões	Mata Atlântica	22152
<i>T. loliacea</i> Mart. ex Schult. & Schult.f.	<i>Diaphoranthema</i>	Milagres	Caatinga	22130
<i>T. recurvata</i> (L.) L.	<i>Diaphoranthema</i>	Milagres	Caatinga	22149
<i>T. tricholepis</i> Baker	<i>Diaphoranthema</i>	Ibitiara	Caatinga	25753
<i>T. streptocarpa</i> Baker 1	<i>Phyrrhiza</i>	Milagres	Caatinga	18591
<i>T. streptocarpa</i> Baker 2	<i>Phyrrhiza</i>	Milagres	Caatinga	25006
<i>T. chapeuensis</i> Rauh	<i>Anoplophytum</i>	Morro do Chapéu	Caatinga/ Campo Rupestre	23983
<i>T. gardneri</i> Lindl.	<i>Anoplophytum</i>	Ilhéus	Mata Atlântica	25393
<i>T. geminiflora</i> Brongn.	<i>Anoplophytum</i>	Brejões	Mata Atlântica	22222
<i>T. globosa</i> Wawra	<i>Anoplophytum</i>	Muritiba	Mata Atlântica	25569
<i>T. pohliana</i> Mez	<i>Anoplophytum</i>	Morro do Chapéu	Caatinga/ Campo Rupestre	23978
<i>T. stricta</i> Sol. 1	<i>Anoplophytum</i>	Ilhéus	Mata Atlântica	25384
<i>T. stricta</i> Sol. 2	<i>Anoplophytum</i>	Milagres	Caatinga	22180
<i>T. stricta</i> subsp. <i>piniformis</i> Rauh ex. Ehers & Heidt	<i>Anoplophytum</i>	Morro do Chapéu	Caatinga/ Campo Rupestre	23977
<i>T. tenuifolia</i> L.	<i>Anoplophytum</i>	Milagres	Caatinga	15626
<i>T. tenuifolia</i> var. <i>vaginata</i> (Wawra) L.B.Sm.	<i>Anoplophytum</i>	Cruz das Almas	Mata Atlântica	24541

Conteúdo de água das sementes

O conteúdo de água das sementes foi avaliado utilizando três amostras de 100 sementes recém-colhidas de cada espécie, a partir do método de massa fresca por aquecimento a 105 °C por 24 h, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Ensaio de germinação e dessecação

Para o teste de germinação, foram utilizadas sementes de quatro espécies, cada uma representando um dos subgêneros de ocorrência na Bahia: *T. streptocarpa* (subgênero *Phytarrhiza*), *T. recurvata* (subgênero *Diaphoranthema*), *T. stricta* 1 (subgênero *Anophophytum*) e *T. polystachia* (subgênero *Tillandsia*), em dois ambientes de cultivo (papel Germitest® e meio de cultura) (MURASHIGE; SKOOG, 1962), em três temperaturas de incubação (20, 25 e 30 °C).

Um lote foi posto para germinar em placas de Petri contendo duas folhas de papel Germitest® autoclavado, umedecidas com 2,5 vezes seu peso (em gramas) de água destilada autoclavada. Outro lote de sementes foi desinfestado em câmara de fluxo laminar com etanol 70 % por 5 minutos, solução de hipoclorito de sódio a 2 % por cerca de 20 minutos e em seguida enxaguadas três vezes em água destilada autoclavada. As sementes foram estabelecidas em placas de Petri contendo metade da concentração de sais de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 3 % de sacarose e solidificado com 2 g L⁻¹ de Phytigel®, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Em seguida, as sementes foram incubadas em três temperaturas (20, 25 e 30 °C). A emergência do eixo embrionário (1 mm) foi o critério utilizado para considerar o início da germinação (PEREIRA et al., 2008). As porcentagens de germinação (G %) e o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foram calculados conforme: $G (\%) = (N/A) \times 100$, onde N = Número de sementes germinadas e A = número total de sementes; $IVG = \sum (Gi/ni)$, onde Gi = número de sementes germinadas e ni = dia da contagem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2 x 3 (espécies x ambientes x temperatura) com quatro repetições, sendo cada repetição composta por 25 sementes, totalizando 100 sementes por tratamento. Os dados de porcentagem de germinação e IVG foram submetidos à

análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,01$), sendo os dados de germinação previamente transformados em $\text{arc sen}(\sqrt{x/100})$. As análises foram realizadas no programa SAS Institute (2010). As avaliações foram realizadas diariamente durante 20 dias.

Para os ensaios de dessecação, sementes dessas mesmas espécies foram condicionadas em câmara com sílica gel ativada por 3, 6, 9 e 12 horas. Um lote foi avaliado quanto ao conteúdo de água da semente, conforme metodologia descrita acima e outro lote posto para germinar em papel Germitest® à temperatura de 30 °C. A avaliação da germinação foi a mesma adotada no ensaio anterior.

Conservação das sementes

As sementes tiveram seus apêndices removidos, e foram separadas em lotes de 100, onde foram depositadas em tubos criogênicos (3 mL) e dessecadas por três horas em sílica gel ativada (melhor tratamento de dessecação). Após seleção do melhor resultado dos ensaios de germinação, foi estabelecido o ensaio de conservação, utilizando-se dois ambientes (freezer a -5 °C e nitrogênio líquido a -196 °C).

Avaliou-se a germinação das sementes e o IVG nos períodos de 1, 7, 30 e 180 dias. O descongelamento foi realizado em temperatura ambiente por 30 min e as sementes foram colocadas para germinar em câmara de crescimento tipo B.O.D. a 30 °C, com fotoperíodo de 16 horas. As avaliações foram feitas diariamente até o 15º dia e a emergência do eixo embrionário (1 mm) foi também o critério usado para se considerar o início da germinação. O tratamento controle se constituiu em sementes retiradas do dessecador e alocadas diretamente em placas de Petri sobre papel Germitest®, nas mesmas condições do ensaio de conservação.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 20 x 2 x 4 (espécies x ambientes de conservação x tempos de avaliação). Para cada tratamento foram usadas quatro repetições, sendo cada repetição constituída de 25 sementes, totalizando 100 sementes por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,01$) para as espécies, teste F ($p < 0,01$) para os ambientes de conservação e teste Tukey ($p < 0,01$) para os tempos de avaliação, sendo os dados

de germinação previamente transformados em $\text{arc sen} (\sqrt{x/100})$. As análises foram realizadas no programa SAS Institute (2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfometria, massa de 1000 sementes e conteúdo de água

A partir da análise de variância, foi possível observar diferença significativa entre as espécies para o número de sementes por cápsula, comprimento, diâmetro e conteúdo de água nas sementes recém-colhidas. Na Tabela 2 é possível observar os valores de cada uma dessas características, bem como o coeficiente de variação.

A maior quantidade de sementes por cápsulas foi observada em *T. pohliana* com uma média de 202,33 e as menores quantidades foram observadas em *T. loliacea* (44,33), *T. streptocarpa 2* (34,33), *T. chapeuensis* (24,30), *T. stricta* subsp. *piniformis* (30,33), *T. tenuifolia* var. *vaginata* (35,67), não havendo diferença estatística entre elas (Tabela 2). Segundo Rodrigues et al. (1999), o número de sementes por fruto possui uma relação direta com o número de óvulos, de modo que as espécies que apresentam maior quantidade de óvulos tem mais chances de produzir mais sementes, garantindo assim sua perpetuação no ambiente. Outros fatores importantes que se pode inferir sobre o número de sementes são a eficiência no sistema de polinização (SCROK; VARASSIN, 2011; BASTOS et al., 2017) e a ausência de barreiras reprodutivas (SOUZA et al., 2017). No entanto, para confirmação desses dados, seriam necessários estudos complementares aos que foram realizados nesse trabalho.

Para o comprimento das sementes, as espécies *T. streptocarpa 1* e *T. streptocarpa 2* apresentaram as maiores médias, com 5,63 e 5,68 mm, respectivamente e as espécies espécies *T. pruinosa* (2,94 mm) e *T. tenuifolia* var. *vaginata* (2,74 mm) apresentaram as menores médias (Tabela 2). Em relação ao diâmetro das sementes, *T. chapeuensis* apresentou a maior média, com 0,56 mm, e as espécies *T. pruinosa* (0,35 mm), *T. loliacea* (0,32 mm), *T. recurvata* (0,31 mm), *T. tricholepis* (0,32 mm), *T. streptocarpa 1* (0,33 mm), *T. globosa* (0,33 mm), *T. stricta 1* (0,31 mm), *T. stricta 2* (0,30 mm) e *T. tenuifolia* var. *vaginata* (0,33 mm), apresentaram as menores médias, não havendo diferença significativa entre elas (Tabela 2). De forma geral, todas as espécies apresentaram a mesma morfologia com formato alongado, estreito e filiforme com apêndice plumoso na região basal,

apesar das pequenas variações no comprimento e espessura para cada espécie. Essas características permitem uma melhor dispersão das sementes pelo vento (SMITH; DOWNS, 1977; MAGALHÃES; MARIATH, 2012; BARFUSS et al., 2016).

Em relação à massa de mil sementes, houve uma variação de 0,09 g para *T. tricholepis* a 0,54 g para *T. gardneri* (Tabela 2). Alguns autores correlacionam positivamente a alta porcentagem de germinação e algumas vezes a velocidade de germinação ao maior tamanho e a maior massa das sementes (MARTINS et al., 2000; SILVA et al., 2010; SOCOLOWSKI et al., 2011). Os resultados aqui apresentados confirmam que as menores massas de sementes (*T. tricholepis*, *T. chapeuensis* e *T. stricta* 2) foram as que apresentaram menores porcentagens de germinação e menores índices de velocidade de germinação.

Quanto ao conteúdo de água nas sementes recém-coletadas, o maior valor observado foi em *T. streptocarpa* 2 (14,58%), *T. gardneri* (14,31%) e *T. paraensis* (14,16%), e o menor em *T. loliacea* (10,35%), *T. tricholepis* (10,16%) e *T. stricta* 2 (10,48%). Naturalmente, sementes ortodoxas já possuem baixos teores de água (FERRARI et al., 2016). Araújo et al. (2016) obtiveram resultados positivos estudando a criopreservação de sementes de maracujá com teor de água de aproximadamente 12%. Além disso, Stanwood (1985) afirma que as sementes ortodoxas ou semi recalcitrantes devem ser armazenadas com teor de umidade abaixo de 10%, resultados estes semelhantes ao encontrado nesse trabalho.

Tabela 2. Morfometria, conteúdo de água e massa de mil sementes em *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil.

Espécie	NSC	COM	DIA	CAG	MMS
<i>T. bulbosa</i> Hook.f.	63,00 ± 8,19 e	3,13 ± 0,17 h	0,47 ± 0,06 c	11,98 ± 0,12 d	0,35
<i>T. juncea</i> (Ruiz & Pav.) Poir.	117,00 ± 26,21 c	3,10 ± 0,32 h	0,46 ± 0,05 c	13,56 ± 0,10 b	0,41
<i>T. paraensis</i> Mez	118,33 ± 17,95 c	3,63 ± 0,29 g	0,51 ± 0,09 b	14,16 ± 0,08 a	0,51
<i>T. polystachia</i> (L.) L	155,33 ± 11,02 b	3,93 ± 0,25 f	0,39 ± 0,05 d	13,58 ± 0,12 b	0,42
<i>T. pruinosa</i> Sw.	60,00 ± 10,58 e	2,94 ± 0,27 i	0,35 ± 0,04 e	11,31 ± 0,21 e	0,21
<i>T. loliacea</i> Mart. ex Schult. & Schult.f.	44,33 ± 14,47 f	4,79 ± 0,56 d	0,32 ± 0,07 e	10,35 ± 0,10 f	0,21
<i>T. recurvata</i> (L.) L.	52,33 ± 8,39 e	3,51 ± 0,32 g	0,31 ± 0,06 e	11,18 ± 0,12 e	0,21
<i>T. tricholepis</i> Baker	65,00 ± 10,82 e	4,35 ± 0,34 e	0,32 ± 0,07 e	10,16 ± 0,16 f	0,09
<i>T. streptocarpa</i> Baker 1	82,67 ± 15,01 d	5,63 ± 0,51 a	0,33 ± 0,06 e	13,33 ± 0,10 b	0,42
<i>T. streptocarpa</i> Baker 2	34,33 ± 4,16 f	5,68 ± 0,88 a	0,52 ± 0,07 b	14,58 ± 0,16 a	0,51
<i>T. chapeuensis</i> Rauh	24,30 ± 9,00 f	5,36 ± 0,48 b	0,56 ± 0,07 a	12,16 ± 0,21 c	0,12
<i>T. gardneri</i> Lindl.	71,33 ± 9,02 e	4,36 ± 0,54 e	0,47 ± 0,07 c	14,31 ± 0,18 a	0,54
<i>T. geminiflora</i> Brongn.	57,33 ± 5,03 e	5,11 ± 0,36 c	0,41 ± 0,06 d	11,86 ± 0,05 d	0,25
<i>T. globosa</i> Wawra	53,33 ± 4,16 e	4,70 ± 0,74 d	0,33 ± 0,06 e	12,86 ± 0,08 c	0,35
<i>T. pohliana</i> Mez	202,33 ± 14,64 a	3,87 ± 0,25 f	0,50 ± 0,06 b	13,87 ± 0,11 b	0,45
<i>T. stricta</i> Sol. 1	66,67 ± 6,11 e	3,75 ± 0,26 g	0,31 ± 0,06 e	12,13 ± 0,12 c	0,35
<i>T. stricta</i> Sol. 2	59,00 ± 10,82 e	3,16 ± 0,36 h	0,30 ± 0,06 e	10,48 ± 0,14 f	0,15
<i>T. stricta</i> subsp. <i>piniformis</i> Rauh ex. Ehers & Heidt	30,33 ± 2,52 f	3,63 ± 0,18 g	0,38 ± 0,05 d	12,56 ± 0,09 c	0,37
<i>T. tenuifolia</i> L.	97,33 ± 13,28 d	3,94 ± 0,28 f	0,41 ± 0,05 d	11,67 ± 0,07 d	0,32
<i>T. tenuifolia</i> var. <i>vaginata</i> (Wawra) L.B.Sm.	35,67 ± 5,51 f	2,74 ± 0,35 i	0,33 ± 0,07 e	11,26 ± 0,11 e	0,23
CV (%)	10,43	15,63	15,70	11,32	

NSC = número de sementes por capsula, COM = comprimento de 25 sementes (mm), DIA = diâmetro de 25 sementes (mm), CAG = conteúdo de água nas sementes recém-colhidas, MMS = massa de mil sementes.

Ensaio de dessecação e germinação

Após a mensuração dos dados morfométricos, conteúdo de água e massa de 1.000 sementes, foram realizados os ensaios de dessecação e germinação para quatro espécies de *Tillandsia*, uma de cada subgênero, servindo assim, como subsídio para os demais estudos de conservação (Figura 1, Tabela 3).

A dessecação das sementes em sílica gel ativada por três horas apresentou resultados significativos na diminuição do conteúdo de água de aproximadamente 12 a 13% para 7 a 8%, estabilizando-se após esse tempo (Figura 1). Essa redução no conteúdo de água não influenciou nas porcentagens de germinação das sementes. Com base nesses resultados, optou-se pela dessecação por três horas para ser usada nos ensaios de conservação.

A partir dos dados avaliados, é possível inferir que as sementes de *Tillandsia* apresentam comportamento ortodoxo, se mantendo viável a baixa umidade. Esse comportamento de tolerância à dessecação em Bromeliaceae foi descrito por Rodrigues et al. (2014) e Silva et al. (2020) estudando dez e três espécies de diferentes subfamílias, respectivamente, incluindo Tillandsioideae. Esses mesmos autores conseguiram reduzir o conteúdo de água das sementes para níveis muito baixos (2,2 %) mantendo sua viabilidade.

Para que seja possível conservar as sementes de uma espécie vegetal, é necessário diminuir e estabilizar o conteúdo de água dentro das sementes (FIGUEIREDO et al., 2017), evitando assim a formação de cristais de gelo dentro das células no caso de sementes criopreservadas, ou degradação nas sementes conservadas em temperaturas mais elevadas, o que pode comprometer a integridade dos tecidos (PEGG, 2010; FIGUEIREDO et al., 2017). Além disso, a tolerância à dessecação é uma característica importante a se conhecer sobre as espécies que se deseja conservar, visto que um menor conteúdo de água dentro das células pode elevar à morte do embrião e afetar as condições sanitárias das sementes (MELLO et al., 2010; VILLELA; PERES, 2004; MASSETO; FARIA, 2019).

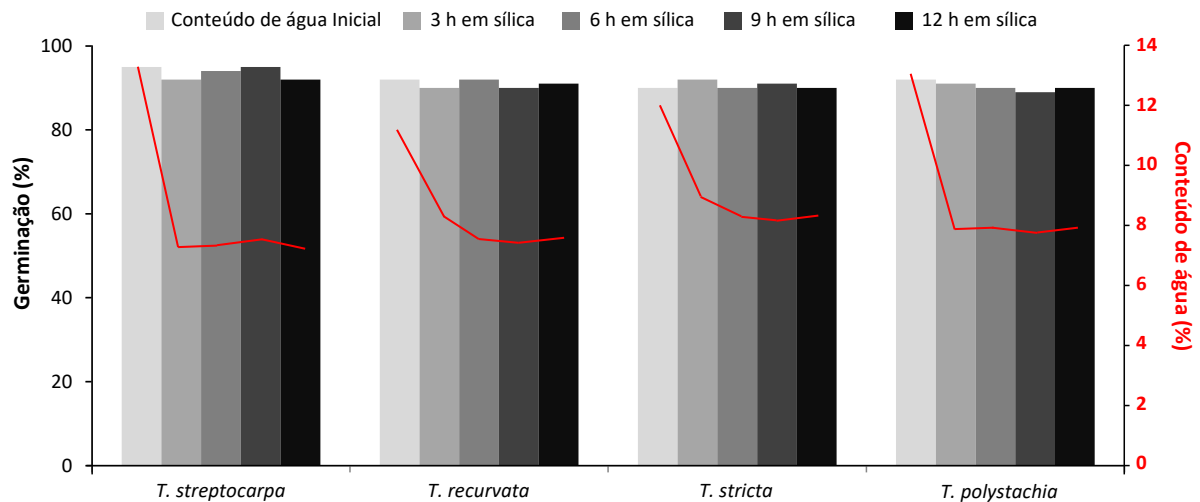


Figura 1. Relação da porcentagem de germinação e conteúdo de água de sementes de *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil em diferentes tempos de dessecação em sílica gel ativada.

Em relação à porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação, não houve interação significativa entre os fatores meio de cultura MS e papel Germitest® para as quatro espécies estudadas (Tabela 3). Em relação à temperatura, as sementes de *T. streptocarpa* 1 e *T. polystachia* apresentaram porcentagens de germinação mais baixas, independente do ambiente de cultivo, quando cultivadas a 20 °C.

Para o índice de velocidade de germinação, também a temperatura de 20 °C proporcionou menores valores para as quatro espécies. As porcentagens de germinação variaram em uma amplitude de 76 % em *T. streptocarpa* 1 com 20 °C a 98 % em *T. recurvata* com 30 °C (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) de quatro espécies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil em função de diferentes condições de cultivo.

	<i>T. streptocarpa</i> 1		<i>T. recurvata</i>		<i>T. stricta</i> 1		<i>T. polystachia</i>	
	MS	PG	MS	PG	MS	PG	MS	PG
	Germinação (%)							
20 °C	80 aB	76 aB	96 aA	95 aA	86 aA	88 aA	82 aB	79 aB
25 °C	96 aA	92 aA	92 aA	91 aA	88 aA	81 aA	91 aA	90 aA
30 °C	92 aA	89 aA	98 aA	94 aA	82 aA	83 aA	94 aA	92 aA
CV (%)	22,38							
	Índice de Velocidade de Germinação							
20 °C	1,40 aB	1,15 aB	3,08 aB	2,96 aB	0,44 aB	0,35 aB	2,30 aB	2,60 aB
25 °C	3,25 aA	3,02 aA	4,34 aA	4,56 aA	2,23 aA	2,33 aA	4,21 aA	4,21 aA
30 °C	3,06 aA	3,86 aA	4,77 aA	4,80 aA	2,21 aA	2,01 aA	4,11 aA	3,83 aA
CV (%)	16,22							

MS = meio de cultura contendo a metade da concentração de sais MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962). PG = papel Germitest®.

Médias seguidas por letras iguais minúscula na linha e maiúsculas nas colunas para cada espécie, não diferem entre si a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A temperatura é um fator determinante para a germinação de sementes para algumas espécies vegetais, participando inclusive na superação de dormência, no crescimento embrionário, agindo na velocidade de absorção de água e nas reações bioquímicas e fisiológicas (SILVA et al., 2002; CASTRO et al. 2004; VIVIAN et al., 2008). No caso desse trabalho, não foi observada dormência em nenhuma das espécies estudadas, mas as temperaturas mais elevadas proporcionaram maior porcentagem de germinação e maior índice de velocidade de germinação.

Para Bromeliaceae, o fator genético deve estar fortemente relacionado à temperatura ideal para a germinação das sementes, pois diversos autores indicam que uma faixa de temperatura de 15 a 35 °C é ideal para a germinação, mas um ajuste de temperatura é fundamental para maximizar essas porcentagens (MERCIER; GUERREIRO FILHO, 1990; NARA; WEBBER, 2002; PINHEIRO; BORGHETTI, 2003; VIEIRA et al., 2007).

Pereira et al. (2010) afirmam que não houve diferença no potencial germinativo da bromélia *Nidularium innocentii* Lem., quanto submetida às temperaturas de 20 °C, 25 °C, e nas temperaturas de 20 °C e 30 °C alternadas. Para Tarré et al. (2007), também não houve diferença significativa nas porcentagens de germinação para as espécies dos gêneros *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. e *Dyckia* Schult. & Schult. f., quando submetidos às temperaturas de 20, 25 e 30 °C. Já para *D. tuberosa* (Vell.) Beer, Vieira et al., (2007) estudou uma variação de 10 a 45 °C e observaram que as temperaturas cardeais não apresentaram germinação e

as ideais foram de 30 a 35 °C para uma máxima porcentagem e máximo índice de velocidade de germinação.

Desse modo, por questões de praticidade e pelo índice de velocidade de germinação das quatro espécies estudadas, uma vez que, não apresentaram diferenças significativas entre as espécies dos diferentes subgêneros, decidiu-se proceder aos ensaios de conservação no papel Germitest® a uma temperatura de 30°C.

Conservação das sementes

A análise de variância evidenciou que as 20 espécies se comportaram de forma diferente entre si, em relação às duas condições de conservação (geladeira a -5 °C e nitrogênio líquido a -196 °C), e ao longo dos tempos de avaliação (1, 7, 30 e 180 dias). Os resultados das porcentagens de germinação podem ser observados nas Figuras 2 e 3, e os índices de velocidade de germinação (IVG) nas Figuras 4 e 5.

De acordo com os resultados encontrados, *T. bulbosa* (Figura 2a, 4a), *T. pruinosa* (Figura 2e, 4e), *T. loliacea* (Figura 2f, 4f), *T. tricholepis* (Figura 2h, 4h), *T. gardneri* (Figura 3b, 5b), *T. pohliana* (Figura 3e, 5e), *T. stricta* 1 (Figura 3f, 5f), *T. stricta* subsp. *piniformis* (Figura 3h, 5h) e *T. tenuifolia* (Figura 3i, 5i) não apresentaram diferença significativa na porcentagem de germinação (Figuras 2 e 3) e no índice de velocidade de germinação (Figuras 4 e 5) entre as duas temperaturas até os 180 dias das sementes conservadas. Todas essas espécies apresentaram germinação superior a 75% com uma média de 90 %, exceto para *T. tricholepis* (Figura 2h), com uma média de 45 %, e *T. tenuifolia*, com 60 %. Em relação ao IVG, os valores variaram de 3 a 6, com os menores valores registrados nas espécies *T. tricholepis* e *T. tenuifolia*, com índices de 3 a 3,5 (Figura 4h, 5i).

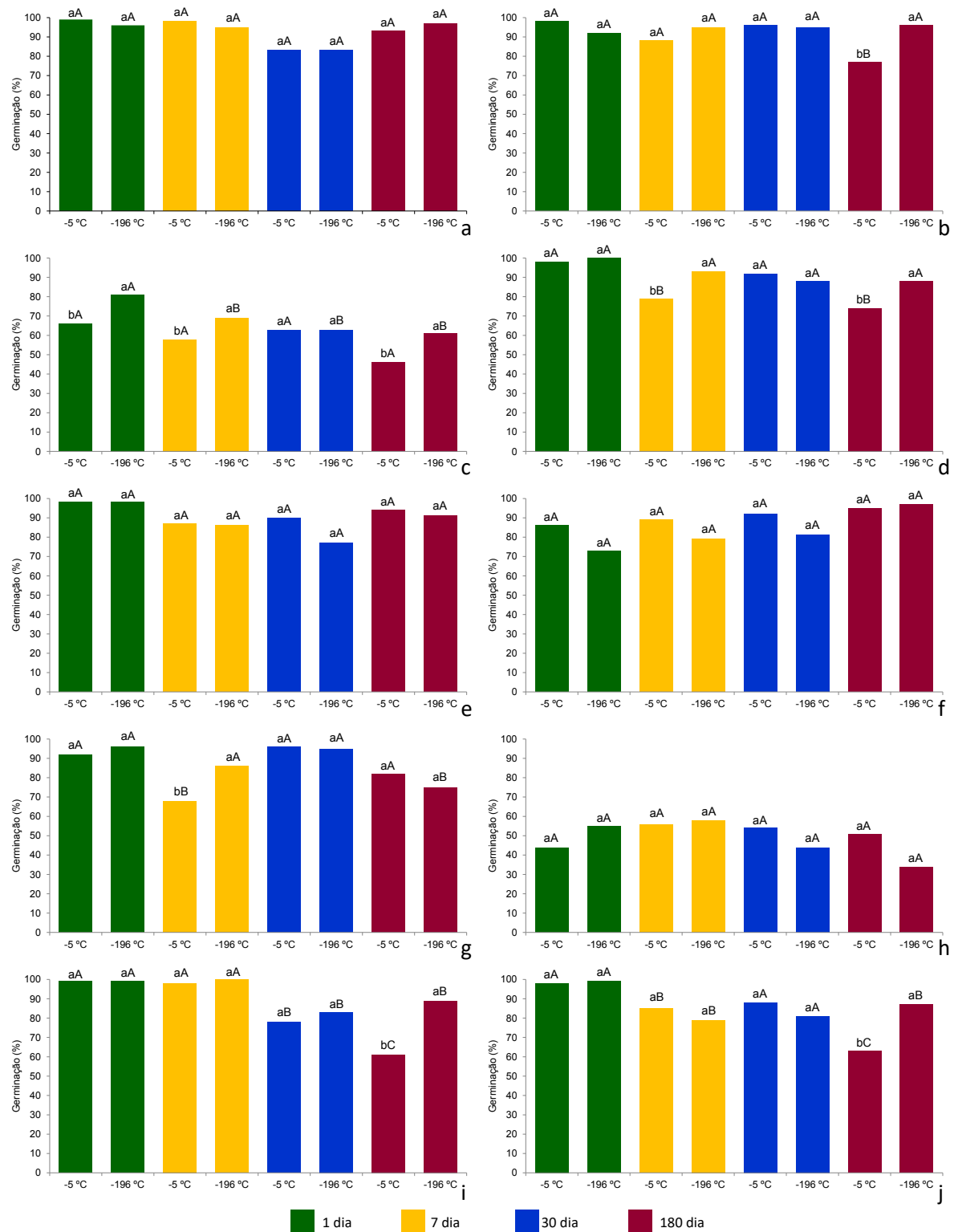


Figura 2. Porcentagem de germinação de sementes de *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil conservadas em temperatura de -5°C e criopreservada (-196°C) ao longo de 180 dias. a) *T. bulbosa*, b) *T. juncea*, c) *T. paraensis*, d) *T. polystachia*, e) *T. pruinosa*, f) *T. loliacea*, g) *T. recurvata*, h) *T. tricholepis*, i) *T. streptocarpa*, j) *T. streptocarpa*. Médias seguidas por letras iguais minúsculas (temperatura) e maiúsculas (tempo) não diferem pelo teste F e Tukey ($p < 0,01$), respectivamente.

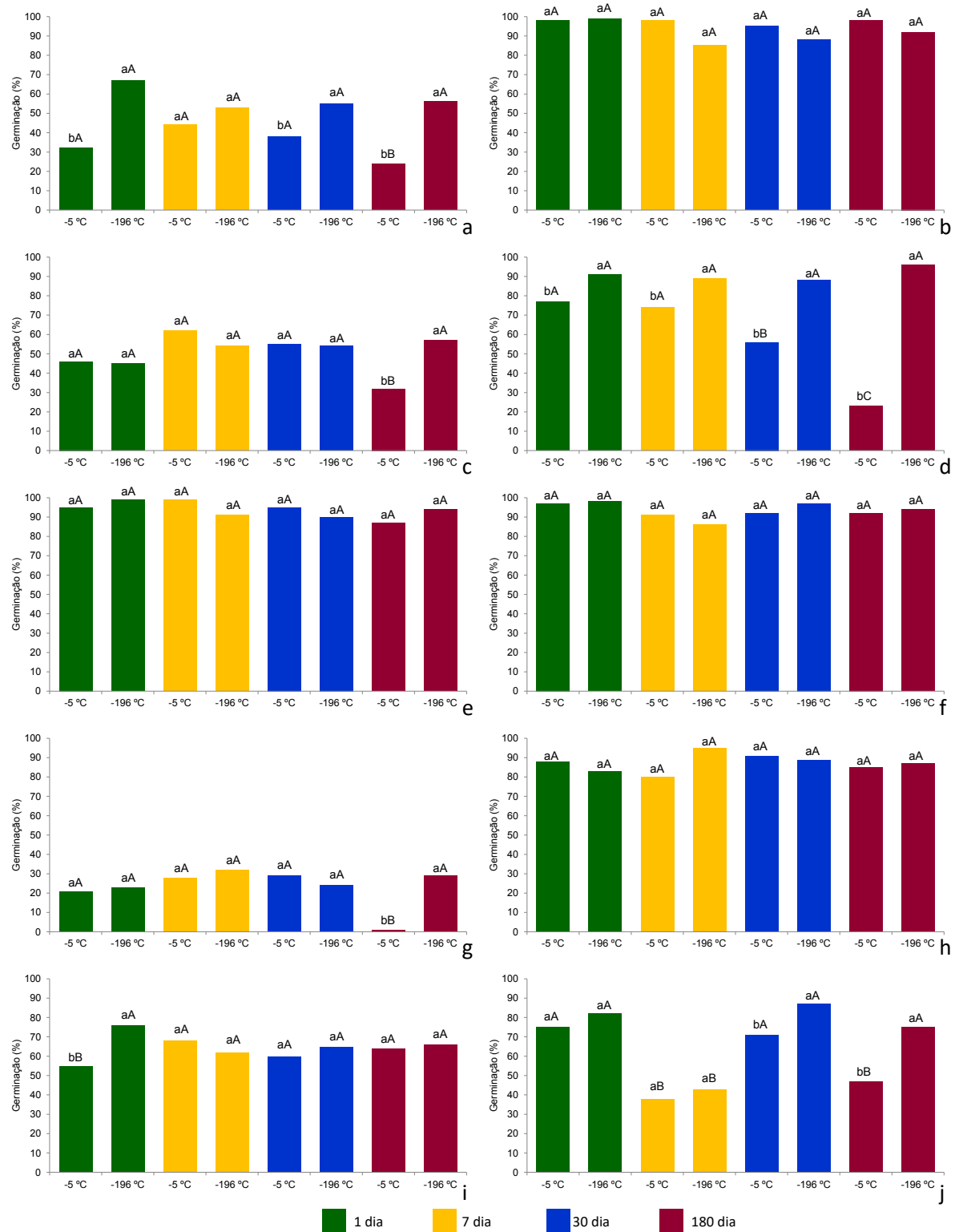


Figura 3. Porcentagem de germinação de sementes de *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil conservadas em temperatura de -5°C e criopreservada (-196°C) ao longo de 180 dias. a) *T. chapeuensis*, b) *T. gardneri*, c) *T. geminiflora*, d) *T. globosa*, e) *T. pohliana*, f) *T. stricta* 1, g) *T. stricta* 2, h) *T. stricta* subsp. *piniformis*, i) *T. tenuifolia*, j) *T. tenuifolia* var. *vaginata*. Médias seguidas por letras iguais minúsculas (temperatura) e maiúsculas (tempo) não diferem pelo teste F e Tukey ($p < 0,01$), respectivamente.

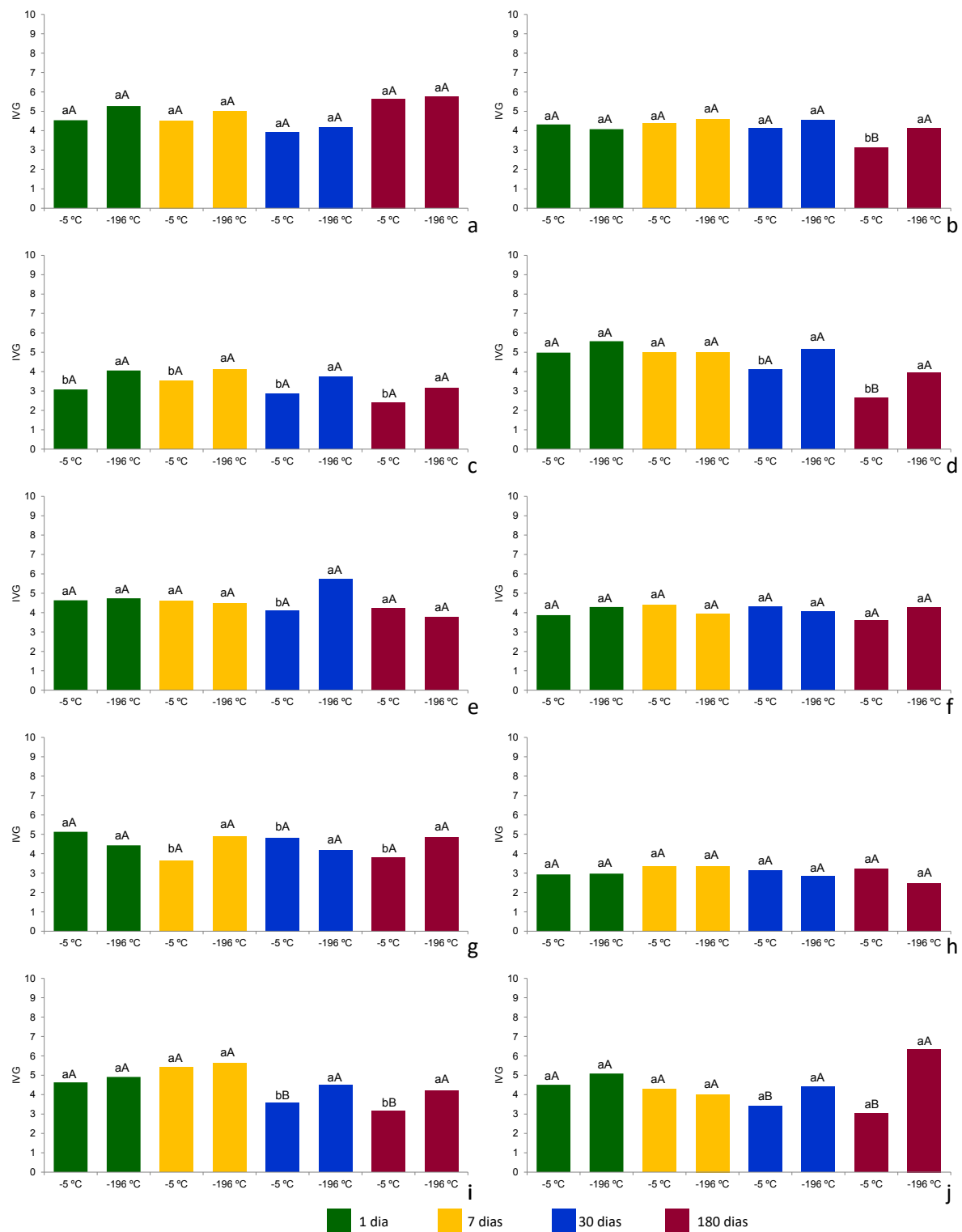


Figura 4. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil conservadas em temperatura de -5°C e criopreservada (-196°C) ao longo de 180 dias. a) *T. bulbosa* Hook.f. b) *T. juncea* (Ruiz & Pav.) Poir. c) *T. paraensis* Mez. d) *T. polystachia* (L.) L. e) *T. pruinosa* Sw. f) *T. loliacea* Mart. ex Schult. & Schult.f. g) *T. recurvata* (L.) L. h) *T. tricholepis* Baker. i) *T. streptocarpa* Baker. j) *T. streptocarpa* Baker 1. Médias seguidas por letras iguais minúsculas (temperatura) e maiúsculas (tempo) não diferem pelo teste F e Tukey ($p < 0,01$), respectivamente.

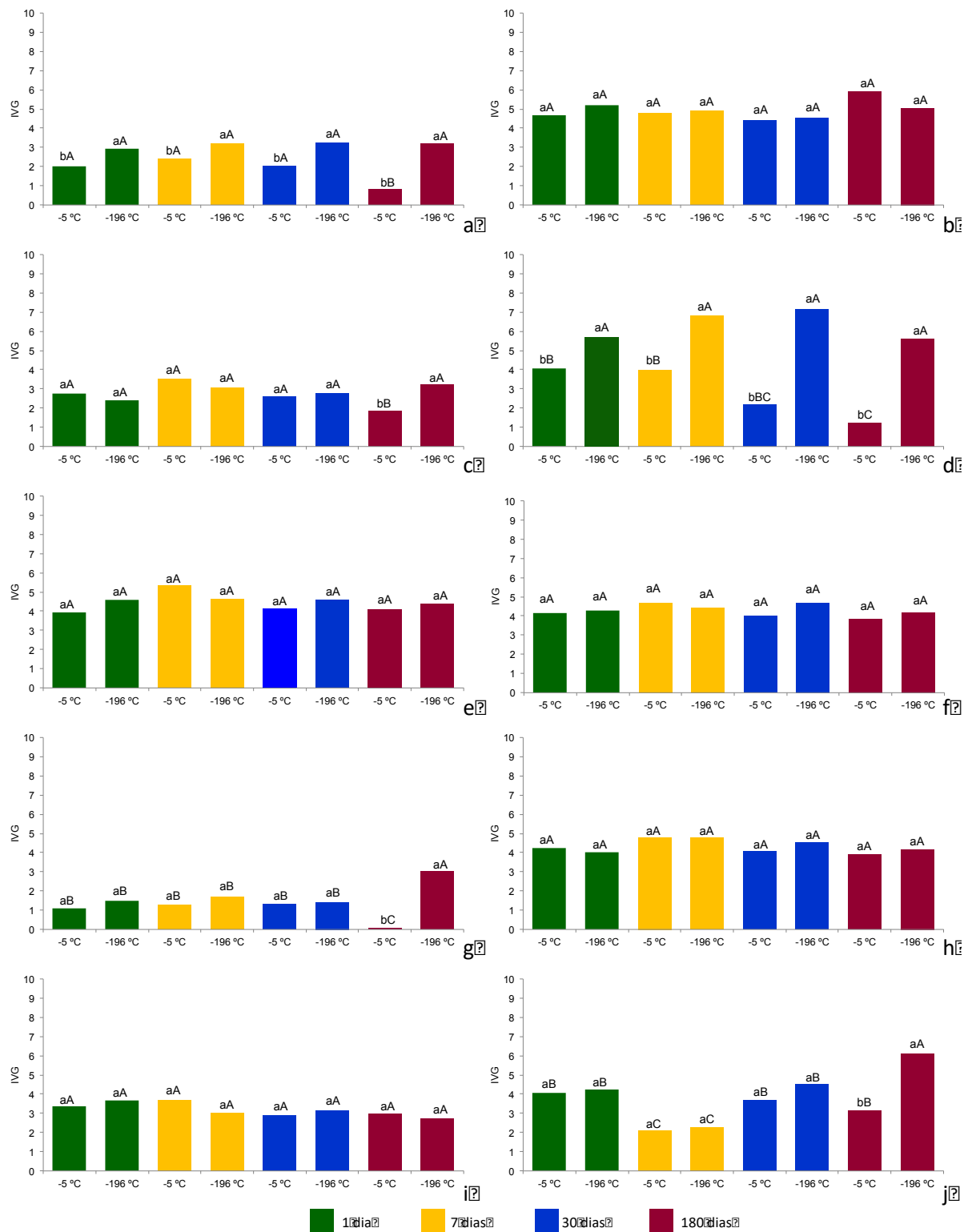


Figura 5. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil conservadas em temperatura de -5°C e criopreservada (-196°C) ao longo de 180 dias. a) *T. chapeuensis* Rauh. b) *T. gardneri* Lindl. c) *T. geminiflora* Brongn. d) *T. globosa* Wawra. e) *T. pohliana* Mez. f) *T. stricta* Sol. 1. g) *T. stricta* Sol. 2. h) *T. stricta* subsp. *piniformis* Rauh ex. Ehers & Heidt. I) *T. tenuifolia* L. j) *T. tenuifolia* var. *vaginata* (Wawra) L.B.Sm. Médias seguidas por letras iguais minúsculas (temperatura) e maiúsculas (tempo) não diferem pelo teste F e Tukey ($p < 0,01$), respectivamente.

As menores porcentagens de germinação foram observadas em *T. stricta* 2 (Figura 3g) com valores médios de 25%, e *T. tricholepis* (Figura 2h) com 45%, independente da temperatura e tempo de avaliação. *T. chapeuensis* (Figura 3a) apresentou porcentagens de germinação variando de 30 a 70%, e *T. geminiflora* (Figura 3c) obteve porcentagem de 30 a 60%. O menor IVG foi observado em *T. stricta* 2 com valor máximo de 2,5 aos 180 dias em nitrogênio líquido.

Aos 180 dias pode-se observar uma redução na porcentagem de germinação e no IVG quando as sementes foram conservadas em geladeira (-5 °C) nas espécies *T. juncea* (Figura 2b, 4b), *T. paraensis* (Figura 2c, 4c), *T. polystachia* (Figura 2d, 4d), *T. streptocarpa* (Figura 2i, 4i), *T. streptocarpa* (Figura 2j, 4j), *T. chapeuensis* (Figura 3a, 5a), *T. geminiflora* (Figura 3c, 5c), *T. globosa* (Figura 3d, 5d), *T. tenuifolia* var. *vaginata* (Figura 3j, 5j), chegando a ausência de germinação e IVG zero em *T. stricta* 2 (Figura 3g, 5g). Em contrapartida, a viabilidade permaneceu com as sementes conservadas em nitrogênio líquido nesse mesmo período para todas as espécies. Isso evidencia a parada do metabolismo obtida pela criopreservação, mantendo a integridade dos tecidos ao longo do tempo.

Em *T. chapeuensis* (Figura 3a, 5a) houve um incremento na porcentagem de germinação e no IVG quando conservados em nitrogênio líquido no 1º, 30º e 180º dias após o estabelecimento (Figuras 2 e 3) e em *T. globosa* esse incremento foi observado em todas as quatro avaliações (Figura 3d, 5d). Esse incremento da porcentagem de germinação após a criopreservação já foi relatado para *Vriesea bahiana* com um acréscimo de 10% (SILVA et al., 2020) e para as espécies *Encholirum magalhaestii* e *E. subsecundum* (TERRÉ et al., 2007). Acredita-se que esse aumento esteja relacionado à aceleração cinética da germinação das sementes, desencadeada pela sensibilidade à dessecação, suportando assim temperaturas ultrabaixas.

Pode-se afirmar que o armazenamento em nitrogênio líquido é um método promissor para a conservação de sementes de 20 espécies de *Tillandsia*, quando dessecadas a um teor de água de aproximadamente 7%. Amostras de todas as espécies encontram-se conservadas para resgate e avaliação com um e dois anos.

Uma amostra das plântulas advindas dos diferentes tratamentos de conservação após 180 dias foi aclimatizada sobre placas de fibra de coco, e até o

presente momento, não apresentaram diferenças morfológicas e nem de desenvolvimento quando comparadas ao controle.

Pode-se concluir que nossos resultados são promissores, e apoiam o estabelecimento de um criobanco de *Tillandsia*, principalmente para espécies endêmicas e vulneráveis a extinção.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, D.S.; LUZ, P. B.; NEVES, L.G.; PAIVA SOBRINHO, S. Seed cryopreservation of *Passiflora* species. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 3, p. 248-253, 2016.
- BARFUSS, M. H. J.; TILL, W.; LEME, E. M. C.; PINZÓN, J. P.; MANZANARES, J. M.; HALBRITTER, H.; SAMUEL, R.; BROWN, J. K. Taxonomic revision of Bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. **Phytotaxa**, Auckland, v. 279, n. 1, p. 1-97, 2016.
- BASTOS, M. J. S. M.; BASTOS, L. P.; SOUZA, E. H.; SOARES, T. L.; MORAIS, D. V.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C. Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, Alta Floresta, v. 31, n. 4, p. 665-676, 2017.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009, 399 p.
- CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, pp. 51-67, 2004.
- ENGELMANN, F. *In vitro* conservation of tropical plant Germoplasma: a review. **Euphytica**, Cham, v. 57, n. 3, p. 227-243, 1991.
- FERRARI, E. A. P.; COLOMBO, R. C.; FARIA, R. T.; TAKANE, R. J. Cryopreservation of seeds of *Encholirium spectabile* Martius ex Schultes f. by the vitrification method. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 1, p. 127-177, 2016.
- FIGUEIREDO, J. C.; DAVID, A. M. S. S.; SILVA, C. D.; AMARO, H. T. R.; ALVES, D. D. Maturação de sementes de pimenta em função de épocas de colheita dos frutos. **Revista Scientia Agraria**, Curitiba, v. 18, n. 3, p. 1-7, 2017.
- FLORA DO BRASIL 2020, em construção. **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB6361>>. Acesso em: 19 Jul. 2019.
- GOSLING, P. G. Viability testing. In: SMITH, R. D.; DICKIE, J. B.; LININGTON, S. H.; PRITCHARD, H. W.; PROBERT, R. J. (Ed.). **Seed conservation: turning science into practice**. Kew, UK: Royal Botanic Gardens, pp. 445-481, 2003.

GOUDA, E. J.; BUTCHER, D.; GOUDA, K. (cont.updated) **Encyclopaedia of Bromeliads**. Disponível em: <<http://bromeliad.nl/bromNames/>>. University Botanic Gardens, Utrecht. Acesso em: 17 Feb. 2020.

KARTHA, K. K. Meristem culture and germplasm preservation. In: KARTHA, K.K. (Ed.) **Cryopreservation of plant cells and organs**. CRC Press: Boca Raton, Florida, pp. 115-134, 1985.

MAGALHÃES, R. I.; MARIATH, J. E. A. Seed morphoanatomy and its systematic relevance to Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 298, p.1881-1895, 2012.

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A. Influência do peso das sementes de palmito-vermelho (*Euterpe espirosantensis* Fernandes) na porcentagem e na velocidade de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 22, n. 1, p.47-53, 2000.

MASETTO, T. E.; FARIA, J. M. R. In situ DNA fragmentation during the re-establishment of desiccation tolerance in germinated seeds of *Cedrela fissilis* Vell. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, n. 2, p. 244-249, 2019.

MELLO, J. I. O.; BARBEDO, C. J.; SALATINO, A.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Reserve carbohydrates and lipids from the seeds of four tropical tree species with different sensitivity to desiccation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n. 4, p. 889-899, 2010.

MERCIER, H.; GUERREIRO FILHO, O. Propagação sexuada de algumas bromélias nativas da Mata Atlântica: efeito da luz e da temperatura na germinação. **Hoehnea**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 19-26, 1990.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NARA, A. K.; WEBBER, A. C. Biologia floral e polinização de *Aechmea beeriana* (Bromeliaceae) em vegetação de baixo na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 32, n. 4, p. 571-88, 2002.

PANIS, B.; LAMBARDI, M. Status of cryopreservation technologies in plants (crops and forest trees). **The Role of Biotechnology**, Rome, v. 5, n. 7, p. 43-54, 2006.

PEGG, D. E. The relevance of ice crystal formation for the cryopreservation of tissues and organs. **Cryobiology**, San Diego, v. 60, n. 3, p. 36-44, 2010.

PEREIRA, A. R.; PEREIRA, T. S.; ANDRADE, A. C. S. Morfologia de sementes e do desenvolvimento pós- seminal de espécies de Bromeliaceae. **Acta Botanica Brasilica**, Alta Floresta, v. 22, n. 4, p. 1150-1162, 2008.

PEREIRA, C. C.; FRANCINE, L.; PANOBIANCO, M. Germinação e armazenamento de sementes de *Nidularium innocentii* (Lem.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 36-41, 2010.

PINHEIRO, F.; BORGHETTI, F. Light and temperature requirements for germination of seeds of *Aechmea nudicaulis* (L.) Griesebach and *Streptocalyx floribundus* (Martius

ex Shultes f.) Mez (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Alta Floresta, v. 17, n. 1, p. 27-35, 2003.

RODRIGUES, A. R. P.; FORZZA, R. C.; ANDRADE, A. C. S. Physiological characteristics underpinning successful cryopreservation of endemic and endangered species of Bromeliaceae from the Brazilian Atlantic Forest. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 176, n. 4, p. 567-578, 2014.

RODRIGUES, L. R.; DORNELLES, A. L. C.; WITTMANN, M. T. S. Poliembrião e número de sementes por fruto de quatro cultivares de tangerineira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 469-474, 1999.

RUEDEN, C. T.; SCHINDELIN, J.; HINER, M. C.; DEZONIA, B. R.; WALTER, A. E.; ARENA, E. T.; ELICEIRI, K. W. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data, **BMC Bioinformatics**, London, v. 18, n. 529, p. 1-26, 2017.

SAS Institute. **SAS Use1s Guide**. Cary, Nc., SAS Institute Inc. 2010.

SCROK, G. J.; VARASSIN, I. G. Reproductive biology and pollination of *Aechmea distichantha* Lem. (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 25, n. 3, p. 571-576, 2011.

SILVA, K. S.; MENDONÇA, V.; MEDEIROS, L. F.; FREITAS, P. S. C.; GÓIS, G. B. Influência do tamanho da semente na germinação e vigor de mudas de jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 5, n. 4, p. 217-221, 2010.

SILVA, L. M. M.; RODRIGUES, T. J. D.; AGUIAR, I. B. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p.691-697, 2002.

SILVA, R. L.; FERREIRA, C. F.; LEDO, C. A. S.; SOUZA, E. H.; SILVA, P. H.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, F. V. D. Viability and genetic stability of pineapple germplasm after ten years of *in vitro* conservation. **Plant Cell Culture and Micropropagation**, Lavras, v. 127, n. 1, p. 123-133, 2016.

SILVA, S. S. S.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; MAX, D. A. S.; ROSSI, M. L.; COSTA, M. A. P. C. Post-seminal development and cryopreservation of endemic or endangered bromeliads. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, p. 1-38, 2020. (no prelo).

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, New York. v. 14, n. 2, p. 663-1492, 1977.

SOCOLOWSKI, F.; VIEIRA, D. C. M.; TAKAKI, M. Seed mass of *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (Bignoniaceae): effects on emergence and seedling development under full sun and shade. **Biota Neotropica**, Campinas, n. 11, v. 2, p. 171-178, 2011.

SOUZA, E. H.; VERSIEUX, L. M.; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; COSTA, M. A. P. C.; MARTINELLI, A. P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam v. 221, n. 1, p. 53-61, 2017.

STANWOOD, P. C. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation. In: KARTHA, K. (Ed.). **Cryopreservation of Plant Cells and Organs**, Boca Raton: CRC Press, pp.199-225, 1985.

TARRÉ, E.; PIRES, B. B. M.; GUIMARÃES, A. P. M.; CARNEIRO, L. A.; FORZZA, R. C.; MANSUR, E. Germinability after desiccation, storage and cryopreservation of seeds from endemic *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. and *Dyckia* Schult. & Schult. f. species (Bromeliaceae). **Acta Botânica Brasileira**. Feira de Santana, v. 21, n. 4, p. 777-783, 2007.

VIEIRA, D. C. M.; SOCOLOWSKI, F.; TAKAKI, M. Germinação de sementes de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas em luz e escuro. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 183-188, 2007.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: BORGHETTI, F.; FERREIRA, A.G. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

VIVIAN, R.; SILVA, A. A.; GIMENES JUNIOR, M.; FAGAN, E. B.; RUIZ, S. T.; LABONIA, V. Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência: breve revisão. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 695-706, 2008.

WITHERS, L. A.; WILLIAMS, J. T. Conservação *in vitro* de recursos genéticos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, pp. 297-330, 1998.

CAPÍTULO 2

MORFOANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE *Tillandsia* (Bromeliaceae) OCORRENTES NA BAHIA, BRASIL²

²Capítulo a ser formatado e submetido ao periódico científico Brazilian Journal of Botany.

MORFOANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE *Tillandsia* (Bromeliaceae) OCORRENTES NA BAHIA, BRASIL

RESUMO: *Tillandsia* é o maior gênero da família Bromeliaceae, com 746 espécies atualmente distribuídas em sete subgêneros. Quatro destes subgêneros (*Anoplophytum*, *Phytarrhiza*, *Tillandsia* e *Diaphoranthema*) ocorrem no estado da Bahia, sendo registradas 26 espécies distribuídas na Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga. Estudos morfoanatômicos foliares fornecem caracteres úteis para análises filogenéticas, taxonômicas e ecológicas. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi caracterizar morfoanatomicamente folhas de 25 espécies de *Tillandsia* ocorrentes no estado da Bahia visando fornecer caracteres úteis para delimitar subgêneros, além de indicar as respostas ao ambiente. A morfologia e anatomia das folhas foram comparadas entre as espécies, sendo os caracteres analisados a partir de uma análise de similaridade (método UPGMA com algoritmo de Gower). As espécies possuem folhas rosulatas, divididas em limbo e bainha foliar com comprimentos e larguras variadas. Todas as espécies apresentaram epiderme uniestratificada com formato retangular e espessura variável com cutícula espessa ou delgada. O formato do limbo foliar variou de levemente curvado, curvo, plano-convexo e côncavo-convexo com ápice aculeado para todas as espécies. Os tricomas escamiformes foram observados em todas as espécies, apresentando variações na densidade do indumento entre as faces e no comprimento da asa e disco central. Os estômatos estão distribuídos longitudinalmente em uma ou em ambas as faces do limbo foliar. Dezoito espécies possuem folhas hipostomáticas, enquanto as outras sete são anfiestomáticas, sendo esta uma característica ocorrente nos subgêneros *Diaphoranthema* e *Phytarrhiza*. O mesófilo é dorsiventral e apresenta dois tipos de parênquimas, aquífero e clorofiliano. Os feixes vasculares são colaterais e parcialmente envolvidos por fibras, exceto em *T. linearis*. A partir da análise de similaridade, foi possível verificar a formação de cinco grupos. O grupo G1 foi formado por *T. linearis* divergindo das demais espécies do subgênero *Phytarrhiza*, apresentando feixes vasculares totalmente envolvidos por fibras pericíclicas. O grupo G2 foi formado pelas demais espécies do subgênero *Phytarrhiza*. O G3 apresentou as quatro espécies do subgênero *Diaphoranthema*. O G4 foi formado pelas cinco espécies do subgênero *Tillandsia*, mostrando alta similaridade entre *T. heubergeri* e *T. sprengeliana*, e entre *T. chapeuensis* e *T. gardneri*. O grupo G5 agrupou 12 espécies do subgênero *Anoplophytum* apresentando maior variabilidade quando comparadas aos demais subgêneros. Os dados quantitativos foram os responsáveis pelo agrupamento desse último subgrupo, uma vez que apenas o caráter envolvimento parcial dos feixes vasculares por fibras foi homogêneo entre as espécies. Com base nos resultados aqui apresentados, os caracteres morfoanatômicos podem ser usados para caracterizar e agrupar as espécies de *Tillandsia*, além de confirmar a adaptabilidade dessas espécies aos diferentes ambientes, principalmente em ambientes xéricos.

Palavras-chave: Bromélia, Ecologia, Epífitas, Monocotiledônea, Subgêneros, Taxonomia, Tillandsioideae.

LEAF MORPHOANATOMY OF *Tillandsia* SPECIES (Bromeliaceae) OCCURRENT IN BAHIA STATE, BRAZIL

ABSTRACT: *Tillandsia* is the largest genus of the Bromeliaceae family, with 746 species currently distributed in seven subgenera. Four of those subgenera (*Anoplophytum*, *Phytarrhiza*, *Tillandsia* and *Diaphoranthema*) occur in the state of Bahia and 26 species are registered distributed in the Atlantic Forest, Cerrado and Caatinga. Morphoanatomic foliar studies provide useful characters for phylogenetic, taxonomic and ecological analyses. Thus, the objective of the work was to characterize morphoanatomic leaves of 25 *Tillandsia* species occurring in the state of Bahia in order to provide useful characters to delimit sub-genera, besides to indicate the answers to the environment. The morphology and anatomy of the leaves were compared among the species, and the characters were analyzed from an analysis of similarity (UPGMA method with Gower algorithm). The species have rosulata leaves, divided into limbus and leaf sheath with varying lengths and widths. All species presented uniestratified epidermis with rectangular shape and variable thickness with thick or thin cuticle. The shape of the leaf limb varied from slightly curved, curved, flat-convex and concave-convex with acule apex for all species. The scamiform trichomes were observed in all species, presenting variations in the density of the monument between the faces and in the length of the wing and central disk. The stomas are distributed longitudinally on one or both sides of the leaf limb. Eighteen species have hypostomatic leaves, while the other seven are anfiestomatic, this being a characteristic occurring in the subgenera *Diaphoranthema* and *Phytarrhiza*. The mesophylus is dorsiventral and presents two types of parenchyma, aquifer and chlorophyllian. The vascular bundles are collateral and partially involved by fibers, except in *T. linearis*. From the similarity analysis, it was possible to verify the formation of five groups. The G1 group was formed by *T. linearis* diverging from the other species of the *Phytarrhiza* subgenus, presenting vascular bundles totally involved by pericyclic fibers. Group G2 was formed by the other species of the *Phytarrhiza* subgenus. G3 presented the four species of the *Diaphoranthema* subgenus. G4 was formed by the five species of the subgenus *Tillandsia*, showing high similarity between *T. heubergeri* and *T. sprengeliana*, and between *T. chapeuensis* and *T. gardneri*. The group G5 grouped 12 species of the *Anoplophytum* subgenus showing a higher variability when compared to the other subgenera. The quantitative data were responsible for the grouping of this last subgroup, since only the partial involvement of vascular bundles by fibers was homogeneous among the species. Based on the results presented here, the morphoanatomic characters can be used to characterize and group the *Tillandsia* species, besides confirming the adaptability of these species to different environments, mainly in xeric environments.

Keywords: Bromeliad, Ecology, Epiphytes, Monocotyledon, Subgenera, Taxonomy, Tillandsioideae.

INTRODUÇÃO

A partir dos primeiros estudos com enfoque ecológico e taxonômico sobre anatomia foliar em Bromeliaceae (KRAUSS, 1949; TOMLINSON, 1969; ROBINSON, 1969), diversos autores observaram que a variabilidade estrutural das folhas de Bromeliaceae constitui uma importante fonte de dados para inferências filogenéticas, ontogenéticas, fisiológicas, ecológicas, taxonômicas e evolutivas (SAJO et al., 1998; ARRUDA; COSTA, 2003; PROENÇA; SAJO, 2004; SOUSA et al., 2005; SOUSA et al., 2005; HORRES et al., 2007; ALMEIDA *et al.*, 2009; MONTEIRO et al., 2011; MANTOVANI et al., 2012; VERSIEUX et al., 2010; 2018; SILVA et al., 2018).

Monteiro et al. (2011) relataram que esses estudos podem melhorar a delimitação taxonômica de espécies, gêneros e subgêneros em espécies de Bromeliaceae, além de permitir inferências filogenéticas dentro da família. Além disso, a anatomia foliar é importante para verificar modificações na organização celular em resposta a diferentes condições ambientais (RIBEIRO et al., 2012; SANTOS et al., 2013; SILVA et al., 2018). Neste sentido, alguns autores afirmam que as espécies de *Tillandsia* L. auxiliam em estudos sobre a qualidade do ar, como bioindicadores, devido a presença de tricomas e outras características foliares (BRIGHIGNA et al., 2002; FIGUEIREDO et al., 2001; 2004; AMADO et al., 2002).

Para o gênero *Tillandsia*, estudos morfoanatômicos foliares com abordagem ecofisiológica (SCATENA; SEGECIN, 2005; BENZ; MARTIN, 2006; STEFANO et al., 2008) ou utilizando como ferramentas taxonômicas e filogenéticas foram realizados (STREHL, 1983; SMITH; DOWNS, 1977; BRIGHIGNA et al., 1984; MOSTI et al., 2005; SCATENA; SEGECIN, 2005; LEONI, 2011). Entretanto, apenas uma parte se concentra nos tricomas (BENZ; MARTIN, 2006; STEFANO et al., 2008).

Segundo Gouda et al. (2020), o gênero *Tillandsia* (Tillandsioideae) apresenta 746 espécies distribuídas em sete subgêneros: *Aerobia* Mez, *Pseudovriesea* Barfuss & W. Till, *Tillandsia* (G. Nicholson), *Viridantha* (Espejo) W. Till & Barfuss, *Anoplophytum* (Beer) Baker, *Phytarrhiza* (Vis.) Baker e *Diaphoranthema* (Beer) Baker, sendo este último, o mais representativo em Bromeliaceae com 20,6% das espécies. As espécies desse gênero podem ser encontradas desde o Sul dos Estados Unidos até o Uruguai (SMITH; DOWNS, 1977; BENZING, 2000; BARFUSS et al., 2016). Na Flora do Brasil (2020) são relatadas 82 espécies em todos os biomas, com 49 espécies endêmicas. Para a Bahia são encontradas 26 espécies, distribuídas na Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga.

A maioria das espécies de *Tillandsia* é epífita e adaptada a ambientes xéricos, possuindo tricomas epidérmicos foliares com capacidade de absorver água e nutrientes (SCATENA; SEGECIN, 2005; PAPINI et al., 2010). É possível também encontrar espécies de hábito rupícola ou saxícola (STEFANO et al., 2008). O gênero é o mais representativo dentro da família na Caatinga, bioma de condições climáticas hostis durante boa parte do ano em virtude de fatores como escassez de água e altas temperaturas durante o dia, devido à alta incidência de luz solar (PONTES; AGRA, 2006). Devido à alta adaptabilidade, as *Tillandsia* são capazes de colonizar diferentes ambientes, além disso, a mesma espécie pode apresentar diferenças na fisionomia a depender das diferentes condições ambientais (RIBEIRO et al., 2012; SANTOS et al., 2013).

Os tricomas representam um importante ganho evolutivo e adaptativo para as *Tillandsia*, pois permitiu que as espécies pudessem absorver nutrientes diretamente do ar, sem precisar utilizar as raízes para tal – as quais possuem a função de fixação nos troncos e galhos de espécies arbóreas (PROENÇA; SAJO, 2007; PAPINI et al., 2010). Além disso, o metabolismo CAM (metabolismo ácido das crassuláceas) também possibilita a diminuição da perda de água para o ambiente, através da capacidade de abertura e fechamento dos estômatos, o que, em condições ambientais mais hostis, é uma característica altamente relacionada à sobrevivência das espécies (CRAYN et al., 2000; PROENÇA; SAJO, 2007; PAPINI et al., 2010).

Assim, sabendo da importância anatômica das folhas de espécies de Bromeliaceae, incluindo os aspectos taxonômicos e ecológicos, esse estudo objetivou caracterizar e comparar as folhas de 25 espécies dos quatro sugnêneros de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia e realizar inferências adaptativas as respostas ambientais.

Tabela 1. Espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil, estudadas no presente trabalho.

Sigla	Espécie	Subgênero	Município de coleta	Bioma	HURB
CHA	<i>T. chapeuensis</i> Rauh	<i>Anoplophytum</i>	Morro do Chapéu	Caatinga/ Campo Rupestre	23983
GAR	<i>T. gardneri</i> Lindl.	<i>Anoplophytum</i>	Ilhéus	Mata Atlântica	25393
GEM	<i>T. geminiflora</i> Brongn.	<i>Anoplophytum</i>	Brejões	Mata Atlântica	22222
GLO	<i>T. globosa</i> Wawra	<i>Anoplophytum</i>	Muritiba	Mata Atlântica	25569
HEU	<i>T. heubergeri</i> Ehlers	<i>Anoplophytum</i>	Brejões	Mata Atlântica	17894
MIL	<i>T. milagrensis</i> Leme	<i>Anoplophytum</i>	Milagres	Caatinga	17887
POH	<i>T. pohliana</i> Mez	<i>Anoplophytum</i>	Morro do Chapéu	Caatinga/ Campo Rupestre	23978
SPR	<i>T. sprengeliana</i> Klotzsch ex Mez	<i>Anoplophytum</i>	Palmeiras	Mata Atlântica/ Campo Rupestre	23997
SNO	<i>T. stricta</i> Sol. 1	<i>Anoplophytum</i>	Milagres	Caatinga	22180
SRO	<i>T. stricta</i> Sol. 2	<i>Anoplophytum</i>	Ilhéus	Mata Atlântica	25384
TEM	<i>T. tenuifolia</i> L.	<i>Anoplophytum</i>	Milagres	Caatinga	15626
TEV	<i>T. tenuifolia</i> var. <i>vaginata</i> (Wawra) L.B.Sm.	<i>Anoplophytum</i>	Cruz das Almas	Mata Atlântica	24541
TRI	<i>T. tricholepis</i> Baker	<i>Diaphoranthema</i>	Ibitiara	Caatinga	25753
LOL	<i>T. loliacea</i> Mart. ex Schult. & Schult.f.	<i>Diaphoranthema</i>	Milagres	Caatinga	22130
REC	<i>T. recurvata</i> (L.) L.	<i>Diaphoranthema</i>	Milagres	Caatinga	22149
USN	<i>T. usneoides</i> (L.) L.	<i>Diaphoranthema</i>	Milagres	Caatinga	22152
LIN	<i>T. linearis</i> Vell.	<i>Phyrarrhiza</i>	Itapebi	Mata Atlântica	25757
STR	<i>T. streptocarpa</i> Baker 1	<i>Phyrarrhiza</i>	Milagres	Caatinga	18591
STC	<i>T. streptocarpa</i> Baker 2	<i>Phyrarrhiza</i>	Milagres	Caatinga	25006
STN	<i>Tillandsia</i> sp.	<i>Phyrarrhiza</i>	Milagres	Caatinga	18592
BUL	<i>T. bulbosa</i> Hook.f.	<i>Tillandsia</i>	Ilhéus	Mata Atlântica/ Restinga	25395
JUN	<i>T. juncea</i> (Ruiz & Pav.) Poir.	<i>Tillandsia</i>	Santa Terezinha	Caatinga	22220
PAR	<i>T. paraensis</i> Mez	<i>Tillandsia</i>	Entre Rios	Mata Atlântica	25754
POL	<i>T. polystachia</i> (L.) L.	<i>Tillandsia</i>	Milagres	Caatinga	22131
PRU	<i>T. pruinosa</i> Sw.	<i>Tillandsia</i>	Brejões	Mata Atlântica	22152

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Foram estudadas 25 espécies de *Tillandsia* ocorrentes no Estado da Bahia, Brasil (Tabela 1). Os vouchers das espécies foram incorporados no Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) e estão em cultivo no Banco de Germoplasma de Bromélias do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. As coletas foram realizadas conforme autorização do SISBIO nº: 69870-1 e as atividades realizadas estão devidamente cadastradas no SISGEN sob a autorização nº: A9E9F8D.

Morfoanatomia foliar

Para as análises morfológicas e anatômicas, foram realizadas secções de 0,5 x 0,5 cm na região central (terço mediano) de três folhas maduras de três indivíduos diferentes, todos coletados em populações naturais.

A caracterização morfológica das folhas foi estudada sob microscopia eletrônica de varredura (MEV). As secções foliares foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) modificada [glutaraldeído (2%), paraformaldeído (2%), CaCl₂ (0,001 M), tampão cacodilato de sódio (0,05 M), em pH 7,2], por 48 horas. Em seguida, as secções foram desidratadas em série etílica crescente (35-100%) a cada 30 minutos. As amostras foram secas ao ponto crítico através de CO₂ líquido e montadas sobre suportes metálicos e metalizadas com ouro. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura de pressão variável JEOL JSMIT300LV (Tokyo, Japão) operando a 15 kV sendo as imagens digitalizadas.

Para as análises anatômicas, as secções foliares foram fixadas na mesma solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) modificada, por 48 horas, desidratadas em série etílica crescente (35-100%), por 30 minutos, infiltradas e emblocadas utilizando-se o kit Historesina (hidroxietilmetacrilato, Leica Heldelberg). A polimerização da resina foi feita à temperatura ambiente por 48 horas. Cortes histológicos seriados (5 µm) foram obtidos em micrótomo rotativo Leica RM 2155 (Leica, Nussloch, Alemanha), dispostos em lâminas histológicas e corados com fucsina ácida (0,1% p/v), seguido de azul de toluidina (0,05% p/v) (FEDER;

O'BRIEN, 1968). Os cortes histológicos foram analisados e fotografados em fotomicroscópio Axioskop 2 (Carl Zeiss, Jena, Alemanha).

Os dados morfométricos foram obtidos em cinco folhas maduras de três diferentes plantas e a partir de cinco micrografias utilizando o software ImageJ 1.4.3.67 (RUEDEN, 2017). Foram mensurados: comprimento da folha (cm), largura da bainha foliar (cm), largura do limbo (cm), espessura do limbo (mm), densidade de tricomas na face adaxial e abaxial ($n^{\circ} \text{mm}^{-2}$), maior comprimento da asa dos tricomas (μM), comprimento maior do disco central dos tricomas (μM) e espessura da epiderme da face adaxial e abaxial (μM).

Para as características qualitativas foram observados: formato do limbo, predominância do parênquima aquífero nas faces da folha, organização do parênquima clorofiliano, presença ou ausência de epiderme com células de paredes espessas, cutícula delgada ou espessa, formato das células do mesofilo do parênquima aquífero (alongadas ou arredondadas), presença ou ausência de canais de ar, tamanho dos feixes vasculares (feixes de mesmo tamanho ao longo do parênquima ou alternados com feixes menores), presença ou ausência de idioblastos, envolvimento total ou parcial das fibras no feixe vascular, formato das células dos canais de ar (braciformes ou isodiamétricas), nível dos estômatos na epiderme (em depressão ou no mesmo nível da epiderme), posição dos estômatos (anfiestomática ou hipoestomática), presença de câmara subestomática e simetria da asa dos tricomas.

Uma análise conjunta dos dados qualitativos e quantitativos foi realizada para estimar a similaridade genética entre as espécies, com base no algoritmo de Gower (1971). Os agrupamentos hierárquicos das espécies foram obtidos pelos métodos de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average*) a partir da distância euclidiana média entre todas as espécies. A validação dos agrupamentos foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (r) (SOKAL; ROHLF, 1962).

Foi utilizado o programa estatístico (R Development Core Team., 2018) para as análises de divergência genética, de agrupamentos hierárquicos e de correlação cofenética. A significância da correlação cofenética foi calculada pelos testes t e de Mantel (10.000 permutações).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfoanatomia foliar

As espécies de *Tillandsia* apresentaram folhas de margens inteiras, simples com comprimento variando de 1,2 cm em *T. tricholepis* a 45,11 cm em *T. polystachia* (Figura 1 e Tabela 2-3).



Figura 1. Morfologia foliar das 25 espécies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) organizadas por subgêneros: *Anoplophytum* (CHA-TEV), *Diaphoranthema* (TRI-USN), *Phytarrhiza* (LIN-STN) e *Tillandsia* (BUL-PRU) ocorrentes na Bahia, Brasil. CHA = *Tillandsia chapeuensis*; GAR = *T. gardneri*; GEM = *T. geminiflora*; GLO = *T. globosa*; HEU = *T. heubergeri*; MIL = *T. milagrensis*; POH = *T. pohliana*; SPR = *T. sprengeliana*; SNO = *T. stricta* 1; SRO = *T. stricta* 2= TEM = *T. tenuifolia*; TEV = *T. tenuifolia* var. *vaginata*; TRI = *T. tricholepis*; LOL = *T. loliacea*; REC = *T. recurvata*; USN = *T. usneoides*; LIN = *T. linearis*; STR = *T. streptocarpa* 1; STC = *T. streptocarpa* 2; STN = *Tillandsia* sp.; BUL = *T. bulbosa*; JUN = *T. juncea*; PAR = *T. paraensis*; POL = *T. polystachia*; PRU = *T. pruinosa*. Barra: 10 cm.

Tabela 2. Morfometria foliar de 13 espécies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) dos subgêneros *Diaphoranthema*, *Phytarrhiza* e *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil.

	<i>Diaphoranthema</i>				<i>Phytarrhiza</i>				<i>Tillandsia</i>				
	TRI	LOL	REC	USN	LIN	STR	STC	STN	BUL	JUN	PAR	POL	PRU
	Limbo foliar												
Comprimento da folha (cm)	1,20	5,50	7,20	8,50	20,80	46,50	22,40	17,30	26,00	38,11	21,92	45,11	14,05
Largura da folha (cm)	0,10	0,30	0,10	0,10	0,10	1,20	1,41	0,60	0,36	0,25	0,35	2,80	0,60
Espessura do limbo foliar (mm)	0,87	0,34	0,73	0,49	0,40	0,88	1,49	1,17	0,82	0,91	1,23	0,73	1,01
Formato do limbo foliar	PCX	CUR	CCX	PCX	CUR	CCX	CCX	CCX	CUR	LCR	PCX	LCR	CUR
Largura da bainha foliar (cm)	0,25	0,60	0,11	0,12	0,35	1,50	1,81	0,83	3,67	1,15	1,35	3,92	2,87
Espessura da epiderme adaxial (µM)	15,68	12,42	18,36	16,97	22,00	15,90	44,07	25,60	8,63	36,90	33,25	22,52	15,93
Espessura da epiderme abaxial (µM)	16,03	19,82	34,46	23,43	18,28	22,02	48,03	13,12	9,79	31,74	16,80	24,10	18,71
Cutícula	DEL	DEL	DEL	DEL	DEL	ESP	ESP	ESP	ESP	ESP	DEL	DEL	DEL
Predominância do parênquima aquífero	NDA	NDA	NDA	NDA	ADA	NDA	NDA	NDA	ADA	ADA	NDA	ADA	ADA
Organização do parênquima clorofiliano	DPA	DPA	DPA	DPA	DPA	DPA	DPA	DPA	BDE	BDE	DPA	DPA	BDE
Epiderme com cél. de paredes espessas	PRE	PRE	PRE	PRE	AUS	PRE	PRE	PRE	AUS	PRE	PRE	PRE	LEV
Formato das cél. do parênq. aquífero	ARR	ARR	ARR	ARR	ARR	ARR	ARR	ARR	ARR	ARR	ARR	ARR	ALO
Canais de ar	AUS	AUS	AUS	AUS	PRE	AUS	AUS	AUS	PRE	PRE	PRE	PRE	PRE
Feixes vasculares (tamanho)	AME	AME	AME	AME	AME	AME	AME	AME	AME	AME	AME	AME	AME
Idioblastos	PRE	AUS	PRE	PRE	AUS	PRE	PRE	PRE	AUS	PRE	AUS	AUS	PRE
Envolvimento das fibras no feixe vascular	PEF	PEF	PEF	PEF	TEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF
Forma das cél. dos canais de ar	-	-	-	-	ISO	-	-	-	BRA	BRA	ISO	ISO	ISO
	Estômatos												
Nível dos estômatos na epiderme	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE	NNE
Posição dos estômatos	HIP	HIP	HIP	HIP	ANF	ANF	ANF	ANF	HIP	ANF	HIP	HIP	HIP
Câmara subestomática	OCL	OCL	OCL	OCL	PRE	PRE	PRE	PRE	OCL	OCL	OCL	OCL	PRE
	Tricomas												
Dens. de tricomas na face adaxial (nº mm ⁻²)	24,75	49,51	13,15	32,49	23,21	37,13	78,91	68,85	26,30	47,19	58,02	79,68	63,43
Dens. de tricomas na face abaxial (nº mm ⁻²)	29,40	52,60	16,25	39,45	20,89	46,32	89,74	73,49	70,40	55,70	63,43	89,74	61,89
Simetria da asa dos tricomas	ASS	ASS	ASS	ASS	SIM	ASS	ASS	ASS	SIM	SIM	SIM	SIM	ASS
Asa dos tricomas (> comp.) (µM)	266,66	343,47	383,44	367,31	368,10	667,78	181,95	214,05	203,62	201,42	217,61	176,44	368,74
Disco central dos tricomas (> comp.) (µM)	104,01	119,72	139,96	126,51	149,18	114,53	95,90	88,07	106,46	97,39	106,10	85,99	120,00

TRI = *Tillandsia tricholepis*; LOL = *T. loliacea*; REC = *T. recurvata*; USN = *T. usneoides*; LIN = *T. linearis*; STR = *T. streptocarpa* 1; STC = *T. streptocarpa* 2; STN = *Tillandsia* sp.; BUL = *T. bulbosa*; JUN = *T. juncea*; PAR = *T. paraensis*; POL = *T. polystachia*; PRU = *T. pruinosa*; ADA = face adaxial; AMB = ambos; AME = alternado com menores; ANF = anfiestomática; ARR = arredondadas; ASS = assimétrico; AUS = ausente; BDE = bem delimitado; BRA = brachiforme; CCX = côncavo-convexo; CUR = curvo; DEL = delgada; DPA = desorganizado, misturado com o parênquima aquífero; ESP = espessa; HIP = hipoestomática; ISO = isodiamétricas; LCR = levemente curvado; LEV = levemente espessada; MTA = mesmo tamanho; NDA = nenhuma das faces; NNE = no nível da epiderme; OCL = ocluída; PCX = plano-convexo; PEF = parcialmente envolvidos por fibras pericíclicas; PRE = presente; SIM = simétrico; TEF = totalmente envolvidos por fibras pericíclicas.

Tabela 3. Morfometria foliar de 12 espécies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) do subgênero *Anoplophytum* de ocorrência na Bahia, Brasil.

	CHA	GAR	GEM	GLO	HEU	MIL	POH	SPR	SNO	SRO	TEM	TEV
Limbo foliar												
Comprimento da folha (cm)	21,50	37,50	10,91	15,30	6,50	9,92	26,50	4,50	13,80	14,30	8,20	6,80
Largura da folha (cm)	1,00	1,00	0,81	1,00	0,31	0,80	0,82	0,29	0,38	0,36	0,28	0,10
Espessura do limbo foliar (mm)	0,84	0,78	0,47	0,45	0,56	0,76	1,10	0,54	0,62	0,50	0,49	0,33
Formato do limbo foliar	LCR	LCR	LCR	LCR	LCR	PCX	LCR	LCR	LCR	LCR	LCR	CUR
Largura da bainha foliar (cm)	1,50	2,05	1,71	1,62	1,50	0,51	3,03	0,85	0,84	1,16	0,60	0,44
Espessura da epiderme adaxial (µM)	14,95	29,77	15,80	10,48	30,34	14,87	13,78	36,06	25,17	19,17	20,35	26,07
Espessura da epiderme abaxial (µM)	25,27	26,84	21,19	17,85	33,01	15,41	22,74	35,14	13,92	10,25	25,63	23,95
Cutícula	DEL	DEL	DEL	DEL	DEL	ESP	ESP	DEL	DEL	DEL	ESP	ESP
Predominância do parênquima aquífero	AFA	AFA	AFA	AFA	ADA	ADA	ADA	AFA	ADA	ADA	ADA	ADA
Organização do parênquima clorofiliano	BDE	BDE	BDE	BDE	BDE	DPA	DPA	BDE	DPA	DPA	DPA	DPA
Epiderme com cél. de paredes espessas	AUS	AUS	AUS	AUS	LEV	PRE	PRE	LEV	PRE	PRE	PRE	PRE
Formato das cel. mesof. do parênq. aquífero	ALO	ALO	AMB	AMB	AMB	ARR	ALO	AMB	ARR	ARR	AMB	ARR
Canais de ar	PRE	PRE	PRE	PRE	AUS	PRE	PRE	PRE	AUS	AUS	PRE	AUS
Feixes vasculares (tamanho)	AME	AME	AME	AME	AME	AME	MTA	AME	AME	AME	AME	AME
Idioblastos	PRE	AUS	AUS	PRE	PRE	AUS	AUS	AUS	AUS	PRE	AUS	AUS
Envolvimento das fibras no feixe vascular	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF	PEF
Forma das cél. dos canais de ar	ISO	ISO	BRA	BRA	-	BRA	BRA	BRA	-	-	ISO	-
Estômatos												
Nível dos estômatos na epiderme	NNE	DEP	DEP	NNE	NNE	DEP	NNE	DEP	DEP	DEP	NNE	NNE
Posição dos estômatos	ANF	HIP	HIP	HIP	HIP	ANF	HIP	HIP	HIP	HIP	HIP	HIP
Câmara subestomática	OCL	OCL	PRE	OCL	OCL	PRE	PRE	PRE	OCL	OCL	PRE	PRE
Tricomas												
Dens. de tricomas na face adaxial (nº mm ⁻²)	23,21	16,25	29,40	40,23	13,15	75,81	29,40	7,74	36,36	42,55	41,00	54,92
Dens. de tricomas na face abaxial (nº mm ⁻²)	24,75	17,02	31,72	22,43	17,02	89,74	44,09	12,38	45,64	50,28	42,55	41,77
Simetria da asa dos tricomas	ASS	ASS	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	SIM
Asa dos tricomas (> comp.) (µM)	532,27	556,25	352,00	171,43	424,85	229,55	241,94	422,02	344,19	270,68	226,13	233,87
Disco central dos tricomas (> comp.) (µM)	64,80	53,23	113,48	73,46	155,36	112,09	118,64	134,58	125,87	119,72	113,62	104,26

CHA = *Tillandsia chapeuensis*; GAR = *T. gardneri*; GEM = *T. geminiflora*; GLO = *T. globosa*; HEU = *T. heubergeri*; MIL = *T. milagrensis*; POH = *T. pohliana*; SPR = *T. sprengeliana*; SNO = *T. stricta* 1; SRO = *T. stricta* 2; TEM = *T. tenuifolia*; TEV = *T. tenuifolia* var. *vaginata*; ABA = face abaxial; ADA = face adaxial; AFA = ambas as faces; ALO = alongadas; AMB = ambos; AME = alternado com menores; ANF = anfiestomática; ARR = arredondadas; ASS = assimétrico; AUS = ausente; BDE = bem delimitado; BRA = bractiforme; CUR = curvo; DEL = delgada; DEP = em depressão; DPA = desorganizado, misturado com o parênquima aquífero; ESP = espessa; HIP = hipoestomática; ISO = isodiamétricas; LCR = levemente curvado; LEV = levemente espessada; MTA = mesmo tamanho; NDA = nenhuma das faces; NNE = no nível da epiderme; OCL = ocluída; PCX = plano-convexo; PEF = parcialmente envolvidos por fibras pericíclicas; PRE = presente; SIM = simétrico; TEF = totalmente envolvido por fibras pericíclicas.

Todas as espécies possuem folhas em roseta, divididas em limbo e bainha foliar. A bainha foliar foi mais evidente nas espécies do subgênero *Tillandsia*, com *T. polystachia*, *T. bulbosa*, *T. pruinosa* e possuindo largura média de 3,92, 3,67 e 2,87 cm, respectivamente (Tabela 3 e Figura 1). O limbo foliar variou de levemente curvado, curvo, plano-convexo e côncavo-convexo com ápice aculeado para todas as espécies (Tabelas 2-3 e Figura 1). *Tillandsia streptocarpa* 1 apresenta ápice fortemente recurvado (Figura 1), através dos quais se enrolam nas plantas sobre as quais vivem como epífitas.

Os tricomas são apêndices epidérmicos do tipo escamiformes e foram observados em todas as espécies, apresentando variação entre elas em relação à densidade do indumento entre as faces adaxial e abaxial, comprimento da asa (células periféricas), e comprimento do disco central, não sendo essas características diagnósticas para separar os quatro subgêneros (Tabelas 2-3 e Figuras 2-8). Vale destacar que em Bromeliaceae, a presença de tricomas esacamiformes é uma sinapomorfia (caracteres compartilhados por vários táxons e que foram adquiridos durante o processo evolutivo) (GILMARTIN; BROWN, 1987; BENZING, 2000).

Em vista frontal, o escudo possuiu quatro células centrais, circundadas por duas camadas de células denominadas de pericentrais (camada interna) e subperiféricas (camada externa) (Figura 2A). Os pedículos dos tricomas são unisseriados e ficam localizados a um nível mais baixo das células epidérmicas (Figura 2B). As asas são formadas por uma camada de células periféricas alongadas e dispostas radialmente com tamanhos e simetrias variadas (Figuras 2-8).

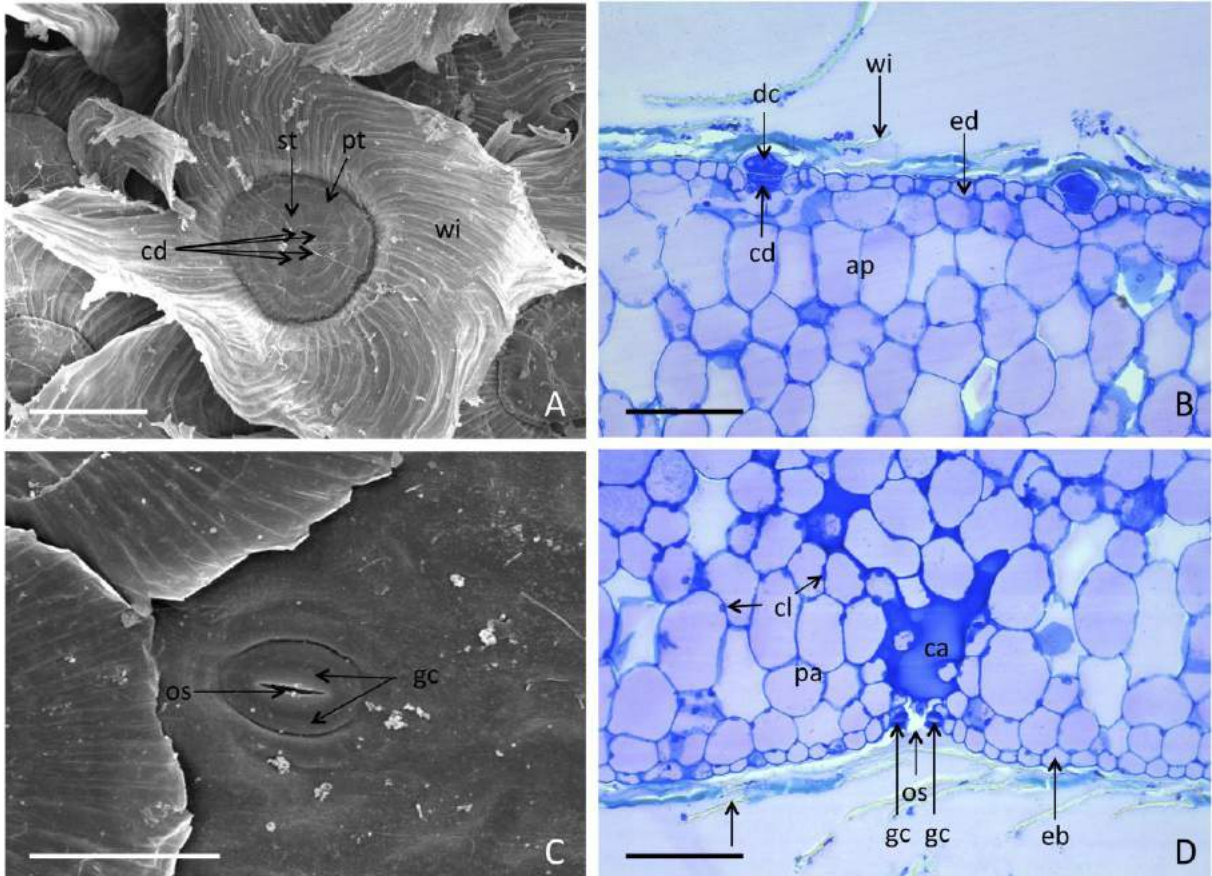


Figura 2. Morfoanatomia do tricoma (A, B) e estômato (C, D) das folhas de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil do subgênero *Tillandsia* observados em microscopia eletrônica de varredura (A, C) e microscopia de luz (B, D). A-B) *T. pohliana*. C) *T. bulbosa*. D) *T. sprenkeliana*. ca = câmara subestomática; cd = disco central do tricoma; cl = cloroplasto; dc = célula do domo; ed = epiderme adaxial; eb = epiderme abaxial; gc = célula guarda; os = ostíolo; ap = parênquima aquífero; pt = célula periférica do tricoma; st = células subperiférica do tricoma; wi = asa. Barras: A = 100 μ m; B, D = 100 μ m; C = 50 μ m.

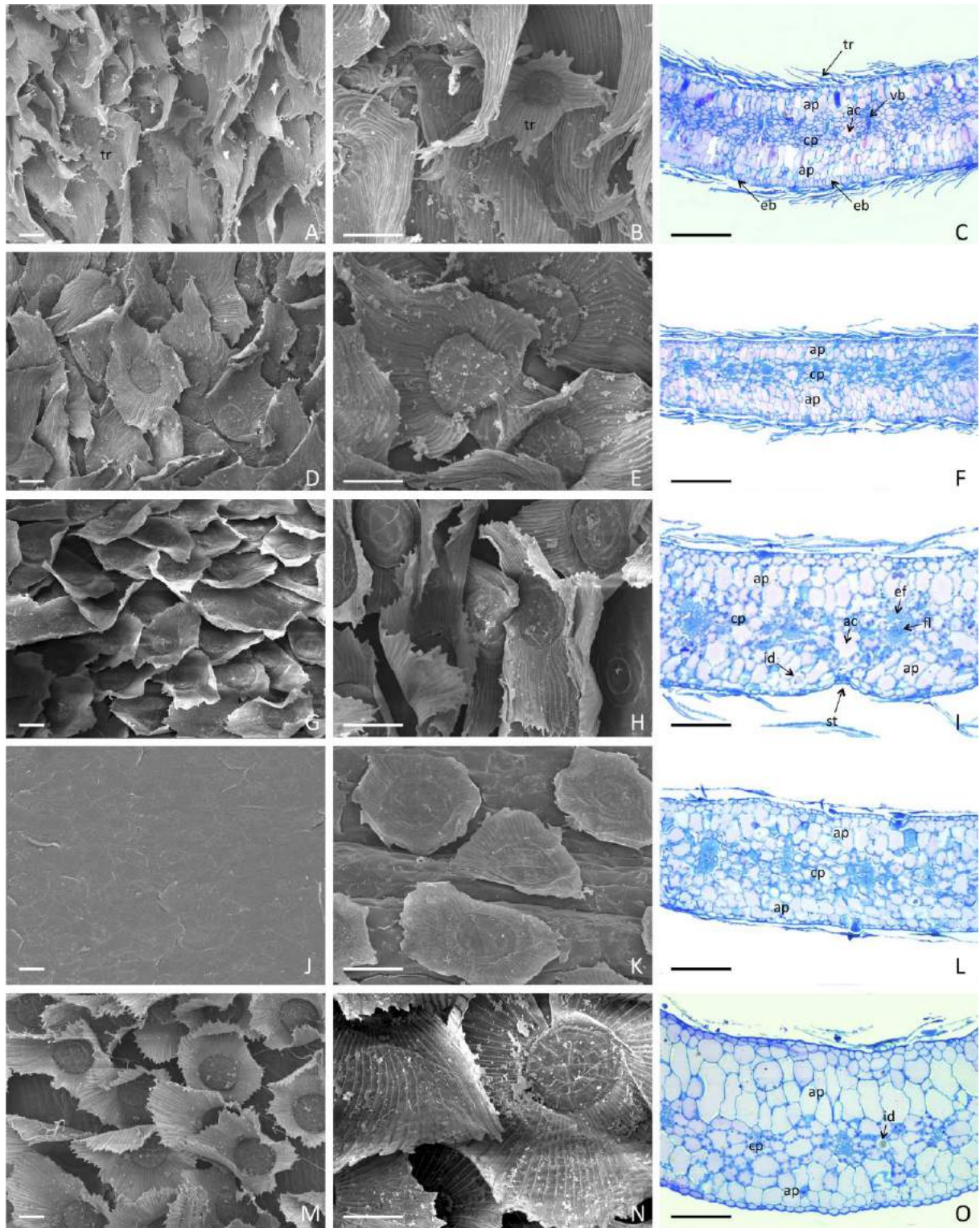


Figura 3. Morfoanatomia da face adaxial (A, D, G, J, M) e abaxial (B, E, H, K, N) das folhas de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil do subgênero *Anoplophytum* observados em microscopia eletrônica de varredura (A-B, D-E, G-H, J-K, M-N) e microscopia de luz (C, F, I, L, O). A-C) *T. chapeuensis*. D-F) *T. gardneri*. G-I) *T. geminiflora*. J-L) *T. globosa*. M-O) *T. heubergeri*. ac = canais de ar; ap = parênquima aquífero; cp = parênquima clorofiliano; eb = epiderme abaxial; ef = fibra esclerênquimática do periciclo; id = idioblasto; fl = floema; st = estômato; tr = tricoma; vb = feixes vasculares. Barras: A-B, D-E, G-H, J-K, M-N = 100 μ m; C, F, I, L, O = 500 μ m.

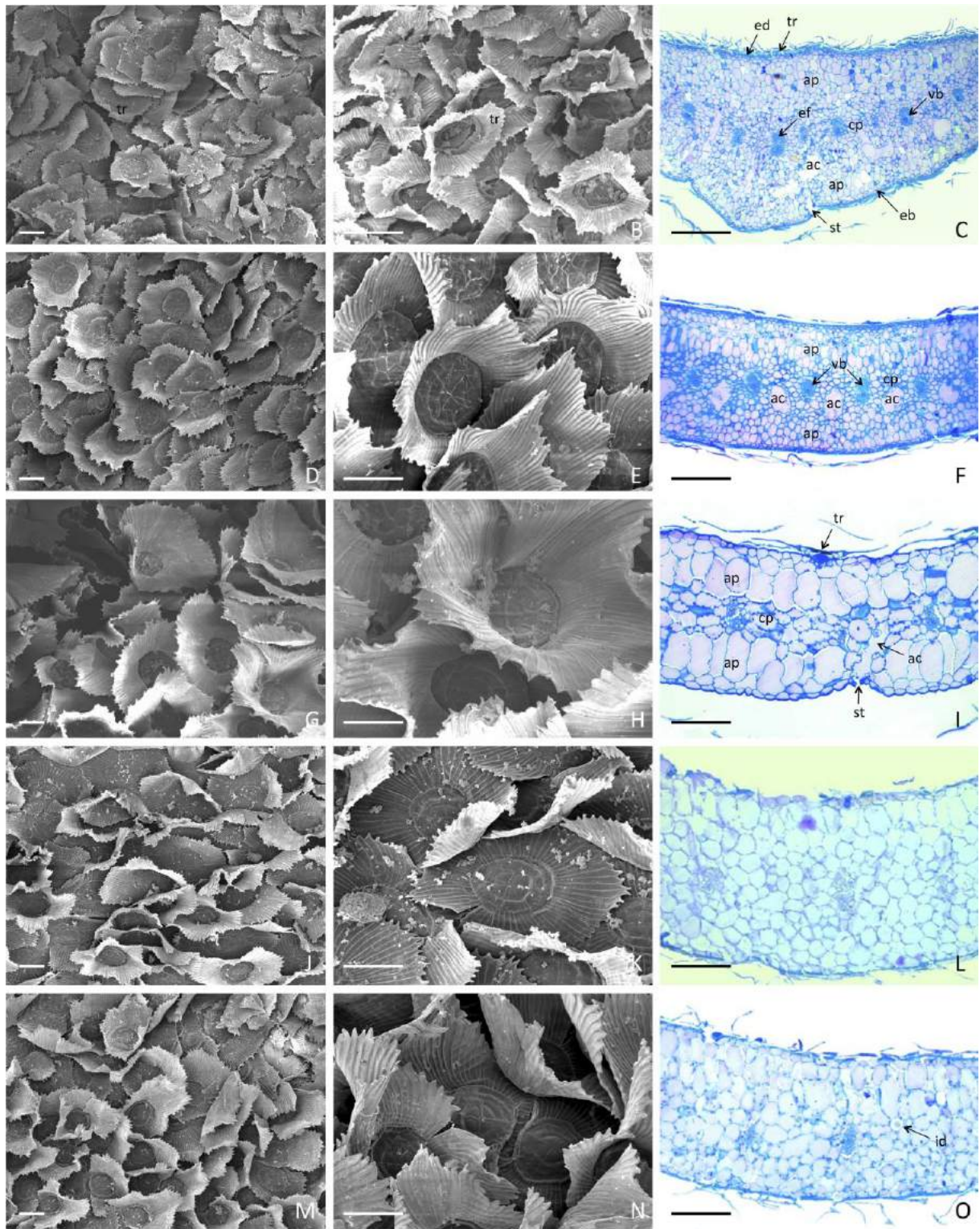


Figura 4. Morfoanatomia da face adaxial (A, D, G, J, M) e abaxial (B, E, H, K, N) das folhas de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil do subgênero *Anoplophytum* observados em microscopia eletrônica de varredura (A-B, D-E, G-H, J-K, M-N) e microscopia de luz (C, F, I, L, O). A-C) *T. milagrensis*. D-F) *T. pohliana*. G-I) *T. sprengeliana*. J-L) *T. stricta* 1. M-O) *T. stricta* 2. ac = canais de ar; ap = parênquima aquífero; cp = parênquima clorofiliano; eb = epiderme abaxial; ed = epiderme adaxial; ef = fibra esclerênquimática do periciclo; id = idioblasto; st = estômato; tr = tricoma; vb = feixes vasculares. Barras: A-B, D-E, G-H, J-K, M-N = 100 μ m; C, F, I, L, O = 500 μ m.

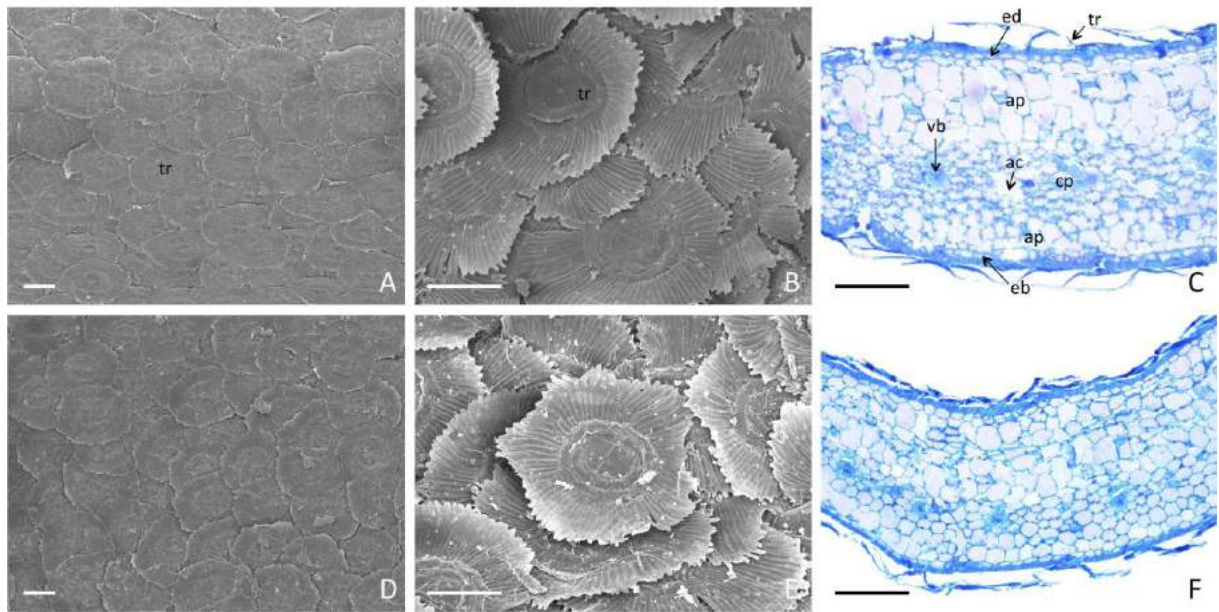


Figura 5. Morfoanatomia da face adaxial (A, D) e abaxial (B, E) das folhas de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil do subgênero *Anoplophytum* observados em microscopia eletrônica de varredura (A-B, D-E) e microscopia de luz (C, F). A-C) *T. tenuifolia*. D-F) *T. tenuifolia* var. *vaginata*. ac = canais de ar; ap = parênquima aquífero; cp = parênquima clorofiliano; eb = epiderme abaxial; ed = epiderme adaxial; tr = tricoma; vb = feixes vasculares. Barras: A-B, D-E = 100 μ m; C, F = 500 μ m.

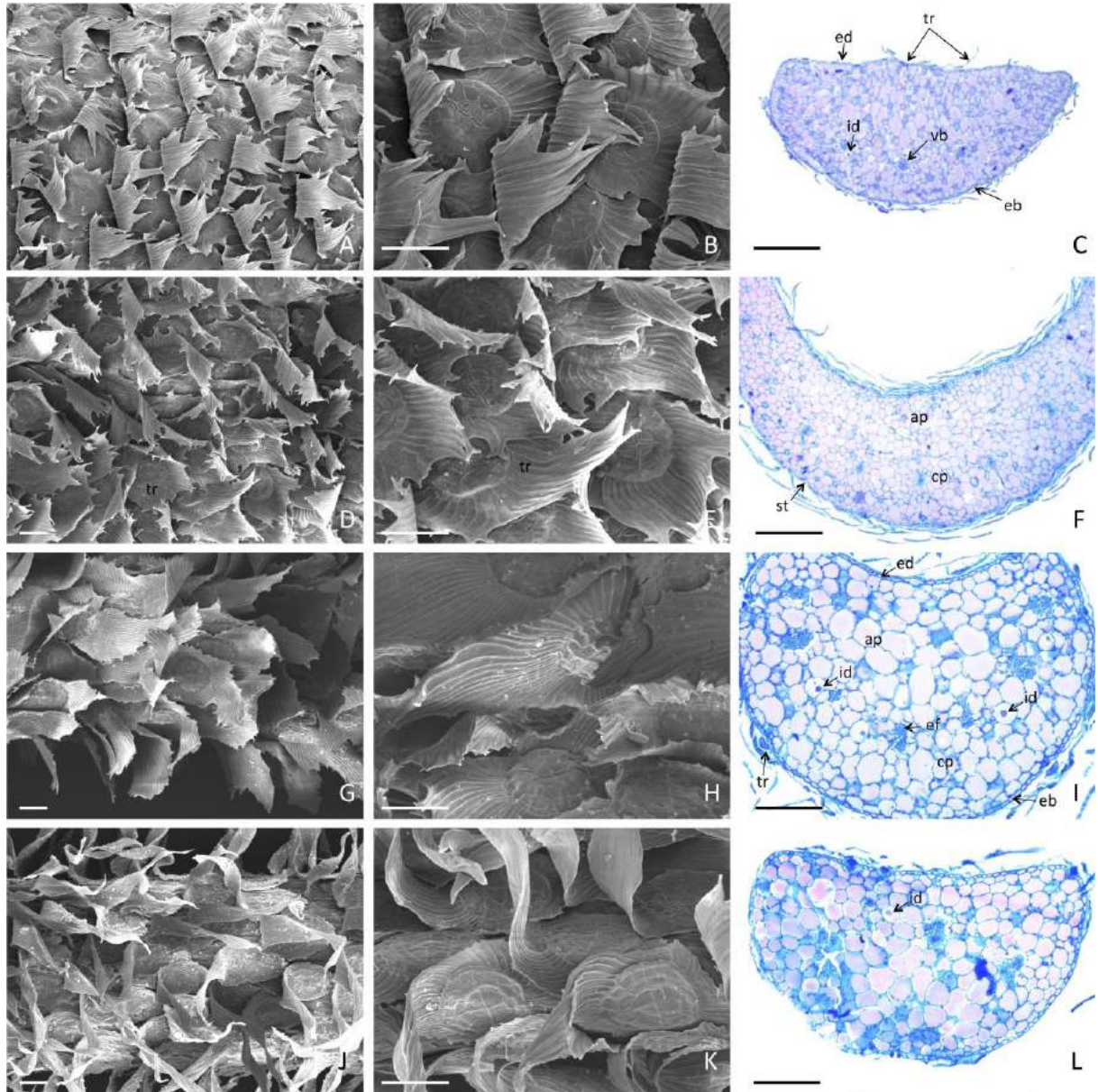


Figura 6. Morfoanatomia da face adaxial (A, D, G, J) e abaxial (B, E, H, K) das folhas de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil do subgênero *Diaphoranthema* observados em microscopia eletrônica de varredura (A-B, D-E, G-H, J-K) e microscopia de luz (C, F, I, L). A-C) *T. tricholepis*. D-F) *T. loliacea*. G-I) *T. recurvata*. J-L) *T. usneoides*. ap = parênquima aquífero; cp = parênquima clorofiliano; eb = epiderme abaxial; ed = epiderme adaxial; ef = fibra esclerênquimática do periciclo; id = idioblasto; st = estômato; tr = tricoma; vb = feixes vasculares. Barras: A-B, D-E, G-H, J-K = 100 μ m; C, F, I, L = 500 μ m.

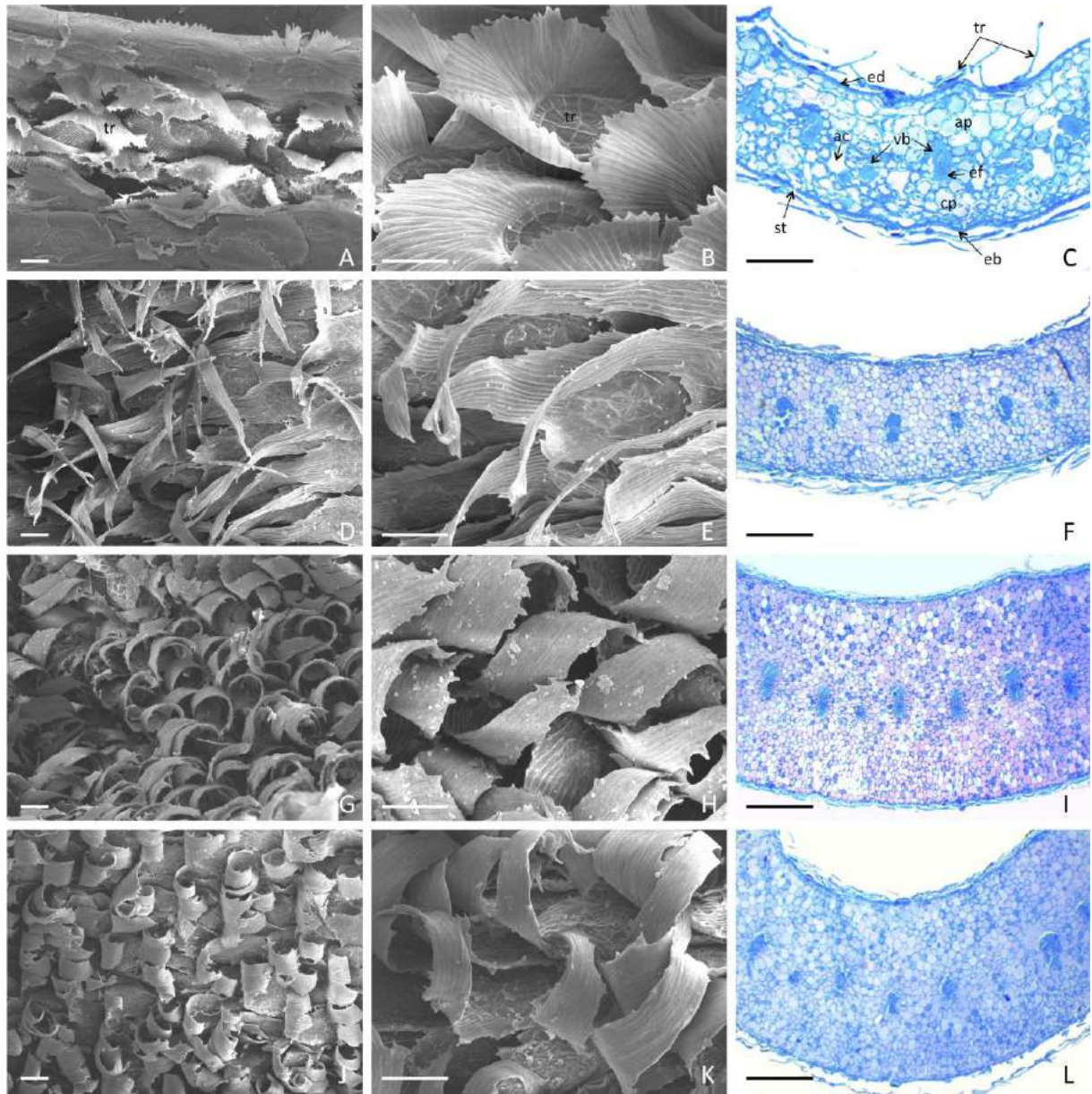


Figura 7. Morfoanatomia da face adaxial (A, D, G, J) e abaxial (B, E, H, K) das folhas de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil do subgênero *Phytarrhiza* observados em microscopia eletrônica de varredura (A-B, D-E, G-H, J-K) e microscopia de luz (C, F, I, L). A-C) *T. linearis*. D-F) *T. streptocarpa* 1. G-I) *T. streptocarpa* 2. J-L) *Tillandsia* sp. ac = canais de ar; ap = parênquima aquífero; cp = parênquima clorofiliano; eb = epiderme abaxial; ed = epiderme adaxial; ef = fibra esclerênquimática do periciclo; st = estômato; tr = tricoma; vb = feixes vasculares. Barras: A-B, D-E, G-H, J-K = 100 µm; C, F, I, L = 500 µm.

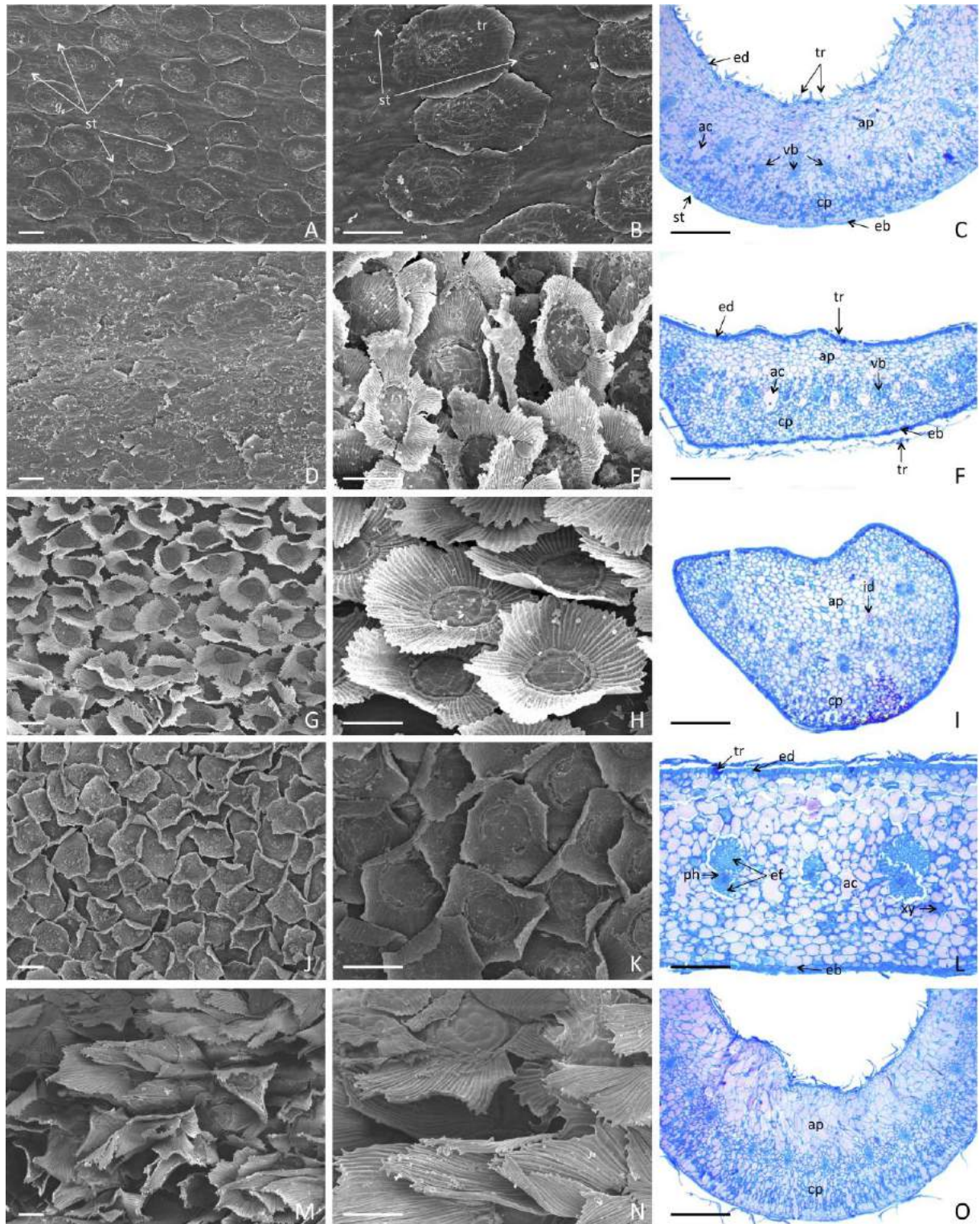


Figura 8. Morfoanatomia da face adaxial (A, D, G, J, M) e abaxial (B, E, H, K, N) das folhas de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil do subgênero *Tillandsia* observados em microscopia eletrônica de varredura (A-B, D-E, G-H, J-K, M-N) e microscopia de luz (C, F, I, L, O). A-C) *T. bulbosa*. D-F) *T. juncea*. G-I) *T. paraensis*. J-L) *T. polystachia*. M-O) *T. pruinosa*. ac = canais de ar; ap = parênquima aquífero; cp = parênquima clorofiliano; eb = epiderme abaxial; ed = epiderme adaxial; ef = fibra esclerênquimática do periciclo; id = idioblastos; ph = floema; st = estômato; tr = tricoma; vb = feixes vasculares; xy = xilema. Barras: A-B, D-E, G-H, J-K, M-N = 100 μ m; C, F, I, L, O = 500 μ m.

A menor densidade média dos tricomas foi observada em *T. sprengeliana* com 7,74 tricomas mm⁻² na face adaxial e 12,30 tricomas mm⁻² na face abaxial. A maior densidade média nas espécies ocorreu em *T. polystachia* e *T. strptocarpa* 2 com valores superiores a 78 tricomas mm⁻², independente da face foliar (Tabelas 2-3). O comprimento da asa (células periféricas) dos tricomas possuiu uma variação de 171,43 µm em *T. globosa* a 667,78 µm em *T. streptocarpa*. Uma maior densidade de tricomas pode indicar maior proteção aos estômatos, evitando a perda de água e CO₂ para o ambiente, além de aumentar a eficiência da absorção de água e nutrientes da atmosfera (BENZING, 2000; VOLTOLINI; SANTOS, 2011). O disco central dos tricomas possuiu uma variação de 64,80 µm em *T. chapeuensis* a 155,36 µm em *T. heubergeri* (Tabelas 2-3). Vale destacar que três espécies do subgênero *Anoplophytum* (*T. globosa*, *T. tenuifolia* e *T. tenuifolia* var. *varginata*) apresentaram tricomas aderidos à superfície da epiderme na face adaxial, característica esta que pode estar relacionada às condições ambientais (Figura 3J, 5A, 5D).

Ainda em relação aos tricomas, Silva e Scatena (2011), ao estudar nove espécies de Bromeliaceae (três espécies de cada uma das subfamílias Bromelioideae, Pitcairnioideae, Tillandsioideae), relataram que apesar das escamas serem um caráter comum a todas as espécies de Bromeliaceae, o gênero *Tillandsia* apresenta estruturas mais especializadas, com uma maior capacidade de captar água e nutrientes do ambiente. Scatena e Segecin (2005) consideram ainda que, do ponto de vista evolutivo, em Tillandsioideae, as escamas possuem estreita relação com o hábito epifítico, juntamente com as raízes utilizadas apenas para fixação, justificando seu formato mais elaborado com escamas assimétricas aumentando a área de contato escudo-fluido, favorecendo a absorção de água e nutrientes, já que para tal, as *Tillandsia* utilizam os tricomas, em vez das raízes.

Os tricomas também realizam a regulação da intensidade luminosa e, conseqüentemente, da temperatura interna dos tecidos, favorecendo os processos fotossintéticos (SCATENA; SEGECIN, 2005). Essas características favorecem o metabolismo CAM, já que as escamas podem funcionar como uma barreira física para proteção dos estômatos (BENZING, 2000; SCATENA; SEGECIN, 2005). Outras funções são atribuídas aos tricomas, como proteção de predadores e atração de polinizadores e dispersores, por formarem um indumento denso, refletindo luz e secretando enzimas digestivas (BENZING, 1976; 2000).

Os estômatos estão distribuídos longitudinalmente e se localizam apenas na face abaxial em 18 espécies estudadas (folhas hipoestomáticas) e em ambas as faces em sete espécies (folhas anfiestomáticas), sendo uma característica ocorrente nos subgêneros *Diaphoranthema* e *Phytarrhiza* (Tabelas 2-3). A presença de folhas anfiestomáticas é indicação de adaptações ao ambiente seco, já que uma densidade maior de estômatos nas folhas pode favorecer o metabolismo CAM dentro dessas espécies. Fahn e Cutler (1992) argumentaram que folhas anfiestomáticas são comuns às plantas xéricas, embora possa ocorrer em outros ambientes. Nossos dados corroboram com os de Scatena e Segecin (2005) e Versieux et al. (2010), onde foi encontrada epiderme hipoestomática na maioria das espécies estudadas. Estes mesmos autores afirmam que tal característica provavelmente tem uma maior relação com a filogenia da família do que com as funções ecológicas.

Os estômatos são anomocíticos (ausentes de células subsidiárias) e circundados por células epidérmicas menores. Vale destacar que os estômatos são recobertos pelos tricomas escamiformes em ambas as faces, quando presentes, e sua avaliação foi realizada pelos cortes anatômicos. *Tillandsia bulbosa* foi a única espécie na qual foi possível observar a presença de estômatos na face abaxial das folhas pela microscopia eletrônica de varredura (Figuras 2C, 8A-B). Vale destacar que a coleta das amostras foliares seguiu um padrão para todas as espécies, permitindo assim a comparação entre elas. Os estômatos cobertos por tricomas escamiformes são adaptações relacionadas à perda de água, e funcionam também como um regulador de temperatura dos tecidos foliares (BENZING et al., 1976; BRIGHIGNA et al., 1984; SCATENA; SEGECIN, 2005).

Apenas o subgênero *Anoplophytum* apresentou variação quanto ao nível dos estômatos na epiderme foliar. Em *T. gardneri*, *T. geminiflora*, *T. milagrensis*, *T. sprengeliana* (Figura 2D), *T. stricta* 1 e *T. stricta* 2 os estômatos estavam inseridos em depressão nas células epidérmicas (Tabela 3, Figuras 3-4), característica esta relacionada à menor perda de água nos tecidos (TOMLINSON, 1969). Para as demais espécies estudadas, os estômatos ocorreram no mesmo nível da epiderme foliar (Tabelas 2-3 e Figuras 2-8).

A maioria das espécies apresentou câmara subestomática ocluída (*T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. globosa*, *T. heubergeri*, *T. stricta* 1, *T. stricta* 2, e todas as espécies dos subgêneros *Diaphoranthema* e *Tillandsia*, com exceção de *T. pruinosa*) (Tabela 2-3, Figuras 2-8). Essa característica já foi relatada para espécies

de bromélias do gênero *Aechmea* e *Araeococcus* Brongn. (SAJO et al., 1998; AOYAMA; SAJO, 2003). Essa oclusão é originada de células hipodérmicas que se projetam no interior das câmaras subestomáticas e tem a função de suporte mecânico, ajudando na abertura do ostíolo quando a folha se torna flácida (KRAUSS, 1949).

A presença de câmara subestomática mantém comunicação com os canais de ar do mesofilo na maioria das espécies estudadas. Apenas para *T. pohliana* do subgênero *Anoplophytum* e para todas as cinco espécies do subgênero *Tillandsia*, os canais de ar estão localizados na parte mediana do mesofilo foliar, sem, no entanto, deixar de manter a comunicação com as câmaras subestomáticas. A presença de canais de ar nas folhas torna-se um facilitador para o transporte de CO₂ dentro dos tecidos, de modo a favorecer e aumentar a eficiência fotossintética (NORTH et al., 2013).

Todas as espécies apresentaram epiderme uniestratificada com formato retangular e espessura variável, recoberta por cutícula espessa ou delgada (Tabelas 2-3, Figuras 3-8). O mesofilo é dorsiventral e apresenta dois tipos de parênquimas, aquífero e clorofiliano (Figuras 3-8). A localização do parênquima aquífero variou conforme as espécies, sendo presente apenas na face adaxial (*T. heubergeri*, *T. milagrensis*, *T. pohliana*, *T. stricta* 1, *T. stricta* 2, *T. tenuifolia*, *T. tenuifolia* var. *vaginata*, *T. linearis*, *T. bulbosa*, *T. juncea*, *T. polystachia* e *T. pruinosa*), em ambas as faces (*T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. geminiflora*, *T. globosa* e *T. spregeliana*) ou intercaladas com o parênquima clorofiliano, sem uma delimitação visível (*T. streptocarpa* 1, *T. streptocarpa* 2, *Tillandsia* sp. e em todas as espécies do subgênero *Diaphoranthema*).

O espessamento das células da epiderme também já foi observado em Bromeliaceae (TOMLINSON, 1969; BRIGHIGNA et al., 1984; SCATENA; SEGECIN, 2005). Tal característica pode favorecer uma menor evaporação de água nos tecidos, função semelhante à cutícula, indicando mais uma forma de adaptação aos climas mais adversos.

O formato das células do parênquima aquífero variou de alongada em paliçada (*T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. pruinosa* e *T. pohliana*), arredondadas em *T. milagrensis*, *T. stricta* 1, *T. stricta* 2, *T. tenuifolia* var. *vaginata* e nas demais espécies dos subgêneros *Diaphoranthema*, *Phytarrhiza* e *Tillandsia*. *T. geminiflora*,

juntamente com *T. globosa*, *T. heubergeri*, *T. sprengeliana* e *T. tenuifolia* apresentaram ambos os tipos (Tabelas 2-3, Figuras 3-8).

A presença de parênquima aquífero é uma estratégia igualmente importante para o sucesso do hábito epifítico em *Tillandsia*, e para outras espécies terrícolas e rupícolas, pois garante o armazenamento de água, tão importante para essas espécies que não podem absorver água do solo constantemente (SCATENA; SEGECIN, 2005; VERSIEUX et al., 2010).

O parênquima clorofiliano é formado por camadas de células arredondadas de paredes finas e bastante concêntricas, ao redor dos feixes vasculares e em toda a extensão do limbo foliar (Figuras 2-8).

Os feixes vasculares são colaterais e parcialmente envolvidos em fibras, exceto para *T. linearis*, onde as fibras envolvem todo o feixe vascular (Figura 7C). Os feixes vasculares são de tamanhos diferentes e alternos, com exceção de *T. pohliana* que possui feixes do mesmo tamanho em todo o limbo foliar. Os feixes intercalam com os canais de ar ou com células do parênquima clorofiliano (Figuras 2-8).

A morfoanatomia foliar fornece características potenciais a serem exploradas em estudos taxonômicos e filogenéticos, como ocorreu em estudos sobre os gêneros *Alcantarea* (E.Morren ex Mez) Harms (VERSIEUX et al., 2010), *Quesnelia* Gaudich. (MANTOVANI et al., 2012), *Guzmania* Ruiz & Pav. e *Mezobromelia* L.B.S, *Aechmea* (AOYAMA; SAJO, 2003; FARIA et al., 2012), além de *Tillandsia* ocorrentes nos campos gerais do Paraná (SCATENA; SEGECIN, 2005). Segecin e Scatena (2004a) também utilizaram caracteres anatômicos de escapos florais de *Tillandsia* para diferenciar espécies semelhantes dentro do gênero. Outros autores também realizaram estudos envolvendo rizomas, raízes e nectários, reforçando que os trabalhos de anatomia são importantes não somente em nível foliar, mas também em nível floral e radicular (SEGECIN; SCATENA, 2004b; MOSTI et al., 2013; HUHN et al., 2016). Estes autores também relacionam as características anatômicas às adaptações ao ambiente e ao hábito epifítico de muitas espécies de Tillandsioideae.

A partir da análise de similaridade (dados quantitativos e qualitativos do limbo foliar, estômatos e tricomas) realizada neste estudo, foi possível verificar a formação de cinco grupos (Figura 9) pelo método de agrupamento UPGMA com base no algoritmo de Gower (GOWER, 1971), utilizando como ponto de corte a dissimilaridade genética média ($D_{dg} = 0,30$). O coeficiente de correlação cofenética

do dendrograma ($r=0,81$, $P < 0,0001$, 10.000 permutações) revelou um bom ajuste entre a representação gráfica das distâncias e a sua matriz original, conforme preconizado por Rohlf e Fisher (1968).

De forma geral, a formação dos agrupamentos obtidos pelos dados morfoanatômicos é corroborada pelos estudos filogenéticos a partir dos dados moleculares de Barfuss et al. (2005; 2016).

O grupo G1 foi formado apenas pela *T. linearis*, pertencente ao subgênero *Phytarrhiza* (Figura 9). Para maioria das características morfoanatômicas avaliadas, *T. linearis* foi divergente das três espécies do subgênero ao qual pertence, como por exemplo: limbo curvo em *T. linearis* (vs. côncavo-convexo nas demais espécies), cutícula delgada (vs. cutícula espessa), predominância de parênquima aquífero na face adaxial em *T. linearis* (vs. ausência de parênquima aquífero organizado em ambas as faces), presença de canais de ar em *T. linearis* (vs. ausência de canais), ausência de idioblasto (vs. presença nas três espécies), simetria nas asas dos tricomas (vs. asas dos tricomas assimétricos), fibras periclinais envolvendo totalmente os feixes vasculares (vs. fibras periclinais parcialmente envolvendo as três espécies), ausência de paredes espessas nas células epidérmicas (vs. paredes espessas nas três espécies), além de diferenças nas características quantitativas (Tabela 2, Figura 7).

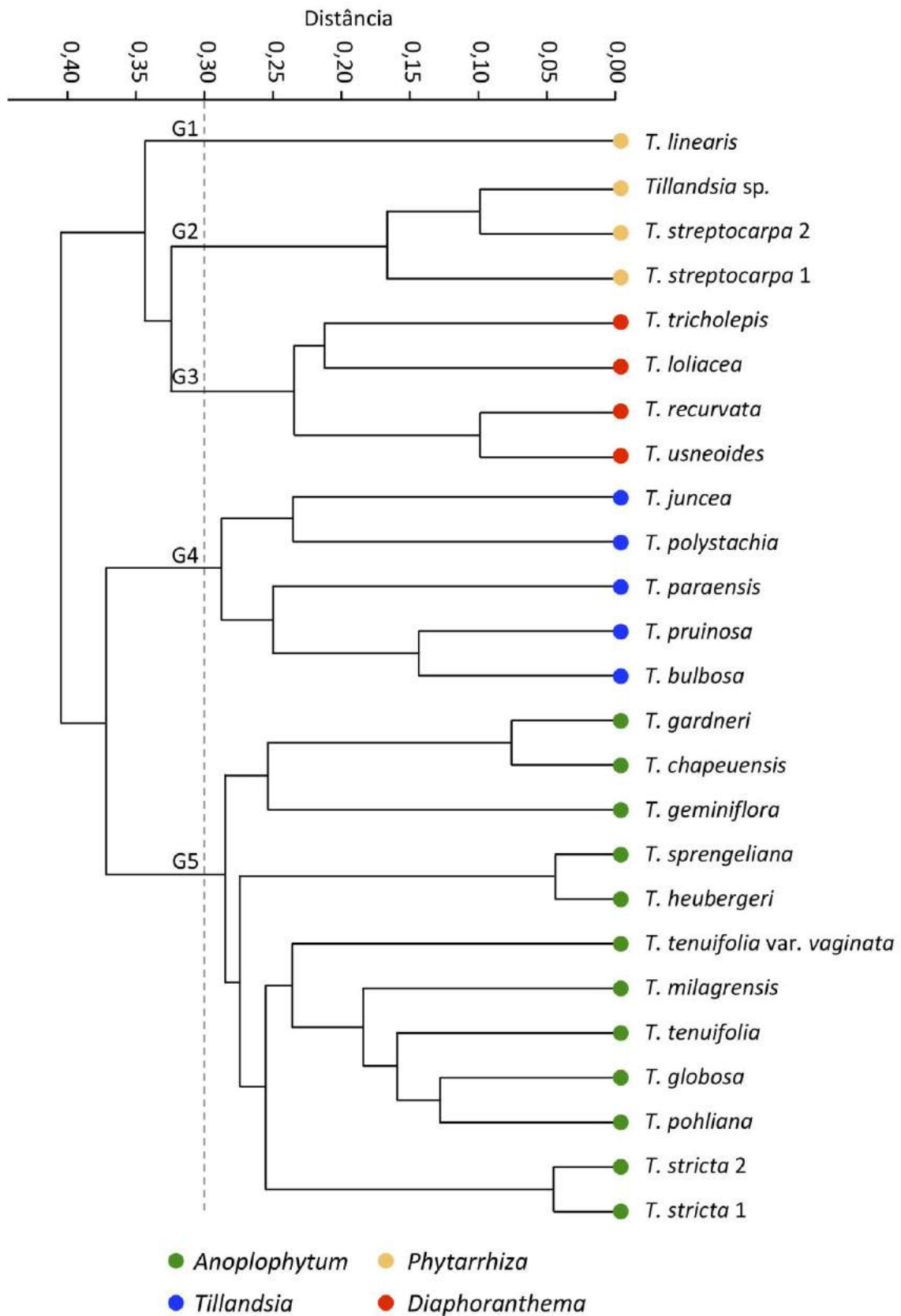


Figura 9. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 25 espécies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil, pelo método UPGMA com base no algoritmo de Gower (1971), a partir das características morfoanatômicas qualitativas e quantitativas das folhas.

De forma geral, a formação dos agrupamentos obtidos pelos dados morfoanatômicos é corroborada pelos estudos filogenéticos a partir dos dados moleculares de Barfuss et al. (2005; 2016).

O grupo G1 foi formado apenas pela *T. linearis*, pertencente ao subg. *Phytarrhiza* (Figura 9). Para maioria das características morfoanatômicas avaliadas, *T. linearis* foi divergente das três espécies do subgênero ao qual pertence, como por exemplo: limbo curvo em *T. linearis* (vs. côncavo-convexo nas demais espécies), cutícula delgada (vs. cutícula espessa), predominância de parênquima aquífero na face adaxial em *T. linearis* (vs. ausência de parênquima aquífero organizado em ambas as faces), presença de canais de ar em *T. linearis* (vs. ausência de canais), ausência de idioblasto (vs. presença nas três espécies), simetria nas asas dos tricomas (vs. asas dos tricomas assimétricos), fibras periclinais envolvendo totalmente os feixes vasculares (vs. fibras periclinais parcialmente envolvendo as três espécies), ausência de paredes espessas nas células epidérmicas (vs. paredes espessas nas três espécies), além de diferenças nas características quantitativas (Tabela 2, Figura 7).

Os feixes vasculares totalmente envolvidos por fibras pericíclicas são uma característica diagnóstica de *T. linearis*, uma vez que das 25 espécies estudadas nesse trabalho apenas esta possui essa conformação. Scatena e Segecin (2005) estudando 12 espécies de *Tillandsia* de diferentes ambientes observaram esta mesma conformação dos feixes vasculares envolvidos por fibras periclinais, para essa única espécie.

O grupo G2 foi formado pelas três espécies do subgênero *Phytarrhiza*, todas coletadas em Milagres (BA) no bioma Caatinga, sendo *T. streptocarpa* 1 ocorrendo como epífita, e *T. streptocarpa* 2 e *Tillandsia* sp. ocorrendo como rupícola (Figura 9). Essas três espécies compartilham características semelhantes, com limbo foliar curvo, ausência de canais de ar, feixes vasculares alternados entre maiores e menores, presença de idioblastos, presença de fibras envolvendo parcialmente os feixes vasculares e asas dos tricomas assimétricos (Tabela 2, Figura 7D-L). Tais características em comum podem indicar a independência dessas espécies em relação ao substrato, além de poderem ser efeito do ambiente onde ocorrem.

Barfuss et al. (2016), realizando um estudo de filogenia envolvendo dados moleculares e morfológicos da subfamília Tillandsioideae, observaram que o subgênero *Phytarrhiza* é altamente polifilético, e possui algumas espécies

correlacionadas diretamente com o subgênero *Aerobia*, que foi recentemente reestabelecido, deixando assim evidente a necessidade de estudos moleculares com *T. linearis*. Vale também ressaltar que *T. linearis* foi coletada em Mata Atlântica e as outras três espécies desse mesmo subgênero na Caatinga, e sendo assim, as diferenças anatômicas também podem ter sido efeito do ambiente na espécie em questão. Donadio et al. (2014) já tinha relatado o caráter polifilético desse subgênero com duas espécies de *Diaphoranthema* inclusas, sugerindo assim, a necessidade de estudos mais aprofundados nessa subfamília.

As quatro espécies do subgênero *Diaphoranthema* formam o grupo G3 (Figura 9). Essas espécies compartilham, em geral, os menores comprimentos e larguras de folhas, parênquima aquífero desorganizado (misturado com o parênquima clorofiliano), cutícula delgada, ausência de canais de ar, feixes vasculares envolvidos parcialmente com fibras e alternos com maiores e menores, estômatos no mesmo nível da epiderme, presença de epiderme com células de paredes espessas e tricomas com asa assimétrica (Tabela 2, Figura 6).

Donadio et al. (2014), estudando a filogenia do subgênero *Diaphoranthema*, relatam alto grau de homogeneidade molecular, além da morfologia da folha, inflorescência, flores e frutos dessas espécies que são muito uniformes, corroborando com os dados obtidos nesse trabalho.

Scatena e Segecin (2005) relatam que o prolongamento assimétrico das asas dos tricomas escamiformes aumenta a área de contato escudo/ fluido, permitindo assim a captação de água e nutrientes que estão disponíveis na atmosfera (orvalho, neblina e chuva), principalmente, em espécies expostas diretamente ao sol e ventos, como foi o caso das quatro espécies do subgênero *Diaphoranthema* coletadas no bioma Caatinga. Strehl (1983) afirmou que quanto mais assimétricas são as asas dos tricomas, mais extremas podem ser as condições ambientais onde estas espécies ocorrem.

As cinco espécies do subgênero *Tillandsia* formam o grupo G4 (Figura 9), que compartilham as mesmas características, como a presença de canais de ar, feixes vasculares alternados entre maiores e menores, feixes vasculares envolvidos parcialmente por fibras pericíclicas e estômatos no mesmo nível da epiderme (Tabela 2). Vale destacar que esse subgênero é bem sustentado filogeneticamente conforme Barfuss et al. (2016).

Em relação ao grupo G5, esse foi formado pelas 12 espécies do subgênero *Anoplophytum* e apresenta maior variabilidade quando comparadas aos demais subgêneros (Tabelas 2-3, Figura 2-5). Os dados quantitativos foram os responsáveis pelo agrupamento, uma vez que apenas caráter do envolvimento parcial dos feixes vasculares por fibras foi homogêneo entre as espécies (Tabela 3).

Dentro do agrupamento do subgênero *Anoplophytum*, vale destacar que *Tillandsia heubergeri* e *T. sprengeliana* foram as espécies mais semelhantes entre si com ponto de corte de 0,05. Dos 25 caracteres avaliados, apenas seis foram divergentes, a exemplo da predominância do parênquima aquífero, presença de canais de ar e formato das células, presença de idioblastos, nível de estômatos na epiderme da folha e oclusão da câmara subestomática (Tabela 3). Estas duas espécies são muito semelhantes morfológicamente quanto ao hábito da planta, folhas e inflorescência. Souza (2020) ao estudar grãos de pólen e Fiorato (2009) ao realizar um estudo taxonômico das espécies de *Tillandsia* da Bahia, sugerem a sinonimização dessas duas espécies, uma vez que as características diagnósticas das espécies representam um grau de variação dentro das mesmas, sendo, portanto, fracas em sua circunscrição.

Outras duas espécies semelhantes são *T. chapeuensis* e *T. gardneri*, com ponto de corte de 0,08, compartilhando a maioria das características, com exceção da presença de idioblastos em *T. chapeuensis*, posição dos estômatos (anfiestomática em *T. chapeuensis* e hipostomática em *T. gardneri*) e nível dos estômatos na epiderme foliar (em depressão em *T. gardneri* e no mesmo nível em *T. chapeuensis*). Essas duas espécies são correlacionadas, e a proximidade entre elas serviu como base para a descrição de *T. chapeuensis* (RAUH, 1986). Morfológicamente, as espécies são bem semelhantes, com diferenças na estrutura da inflorescência e folhas (RAUH, 1986). A proposta de sinonimização já foi sugerida a partir de estudos taxonômicos com morfologia dos grãos de pólen, necessitando apenas de estudos moleculares para sua comprovação (FIORATO, 2009; SOUZA, 2020).

Tillandsia stricta 1 e *T. stricta* 2 foram dois táxons altamente correlacionados, ambos pertencem a mesma espécie, mas coletados em dois biomas diferentes, Mata Atlântica e Caatinga (Tabela 1, Figura 9). As plantas provenientes da Caatinga (*T. stricta* 1) possuíam brácteas verde-alaranjadas e folhas mais rígidas quando comparadas às da Mata Atlântica, com brácteas róseas e folhas mais

membranáceas. Anatomicamente, apenas uma divergência foi observada, com a presença de idioblasto em *T. stricta* 2, proveniente da Mata Atlântica. A presença de idioblastos é recorrente em Bromeliaceae e apresenta função ecológica como estratégia contra a herbivoria, além de servir como depósito para algumas substâncias tóxicas para as células (SILVA; SCATENA, 2011).

Pode-se concluir que os estudos morfológicos e anatômicos são relevantes para a compreensão da sistemática de Bromeliaceae (HORRES et al., 2007; FARIA, 2006). Com base nos resultados aqui apresentados, e de acordo com dados disponíveis em literatura, os caracteres morfoanatômicos podem ser usados para caracterizar e agrupar as espécies de *Tillandsia*, além de confirmar a adaptabilidade dessas espécies ao hábito epífita nos diferentes ambientes, principalmente em ambientes xéricos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V. R.; COSTA, A. F.; MANTOVANI, A.; GONÇALVES-ESTEVEZ, V.; ARRUDA, R. C. O.; FORZZA, R. C. Morphological phylogenetics of *Quesnelia* (Bromeliaceae, Bromelioideae). **Systematic Botany**, Laramie, v. 34, n. 2, p. 660-672, 2009.
- AMADO, F. G. M.; ANDRADE, L. R.; FARINA, M.; MALM, O. Hg localization in *Tillandsia usneoides* L. (Bromeliaceae), an atmospheric biomonitor. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 36, n. 5, p. 881-887, 2002.
- AOYAMA, E. M.; SAJO, M. G. Leaf structure of *Aechmea* Ruiz & Pav. subgenus *Lamprococcus* (Beer) Baker and related species (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 461-473, 2003.
- ARRUDA, R. C. O.; COSTA, A. F. Foliar anatomy of five *Vriesea* Sect. *Xiphion* (Bromeliaceae) species. **Selbyana**, Sarasota, v. 24, n. 2, p. 180-189, 2003.
- BARFUSS, M. H. J.; SAMUEL, R.; TILL, W.; STUESSY, T. F. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. **American Journal of Botany**, New York, v. 92, n. 2, p. 337-351, 2005.
- BARFUSS, M. H. J.; TILL, W.; LEME, E. M. C.; PINZÓN, J. P.; MANZANARES, J. M.; HALBRITTER, H.; SAMUEL, R.; BROWN, J. K. Taxonomic revision of Bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. **Phytotaxa**, Auckland, v. 279, n. 1, p. 1-97, 2016.
- BENZ B.W., MARTIN C.E. 2006. Foliar trichomes, boundary layers, and gas exchange in 12 species of epiphytic *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Journal of Plant Physiology**, Amsterdam, v. 163, n. 3, p. 648–656, 2006.

BENZING, D. H. **Bromeliaceae**: Profile an adaptive radiation. University Press. Cambridge, MA, 2000, 290 p.

BENZING, D. H.; HENDERSON, K.; KESSEL, B.; SULAK, J. The absorptive capacities of bromeliad trichomes. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 63, n. 7, p. 1009-1014, 1976.

BENZING, D.H. Bromeliad trichomes: structure, function and ecological significance. **Selbyana**, Sarasota, v. 1, n. 4, p. 330-348, 1976.

BRIGHIGNA, L.; FIORDI, A.; PALANDRI, M. R. Structural characteristics of mesophyll in some *Tillandsia* species. **Phytomorphology**, Delhi, v. 34, n. 1/4, p.191-200, 1984.

BRIGHIGNA, L.; PAPINI, A.; MOSTI, S.; CORNIA, A.; BOCCHINI, P.; GALLETI, G. The use of tropical bromeliads (*Tillandsia* spp.) for monitoring atmospheric pollution in the town of Florence, Italy. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v. 50, n. 2, p. 577-584, 2002.

CRAYN, D. M.; RANDALL, G. T.; SMITH, J. A. C.; WINTER, K. Molecular systematics investigations in Pitcairnioideae (Bromeliaceae) as a basis for understanding the evolution of crassulacean acid metabolism (CAM). In: WINTER K. L.; MORRISON D. A. (Eds.). **Monocots**: systematics and evolution. Melbourne, CSIRO. pp. 569-579, 2000.

DONADÍO, S.; POZNER, R.; GIUSSANI, L. M. Phylogenetic relationships within *Tillandsia* subgenus *Diaphoranthema* (Bromeliaceae, Tillandsioideae) based on a comprehensive morphological dataset. **Plant Systematics and Evolution**, Cham, v. 301, n. 1, p. 387-410, 2014.

FAHN, A.; CUTLER, D. F. **Xerophytes**. Encyclopedia of Plant Anatomy. Band 13, Teil 3. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1992, 175 p.

FARIA, A. P. G; VIEIRA, A. C.; WENDT, T. Leaf Anatomy and its contribution to the systematics of *Aechmea* subgenus *Macrochordion* (de Vriese) Baker (Bromeliaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 4, p. 961-971, 2012.

FARIA, A. P. G. **Revisão taxonômica e filogenia de *Aechmea* Ruiz & Pav. Subg. *Macrochordion* (de Vriese) Baker, Bromelioideae – Bromeliaceae**. 2006. 199 f. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2006

FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, New York, v.5, n.1, p.123-142, 1968.

FIGUEIREDO, A. M. F.; ALCALA, A. L.; TICIANELLI, R. B; DOMINGOS, M.; SAIKI, M. The use of *Tillandsia usneoides* L. as bioindicator of air pollution in São Paulo, Brazil. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Cham, v. 259, n. 1, p. 59-63, 2004.

FIGUEIREDO, A. M. F.; SAIKI, M.; TICIANELLI, R. B.; DOMINGOS, M.; ALVES, E.S.; MARKERT, B. Determination of trace elements in *Tillandsia usneoides* by neutron activation analysis for environmental biomonitoring. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, Cham, v. 249, n. 2, p. 391-395, 2001.

- FIORATO, L. **O gênero *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) no estado da Bahia, Brasil.** 2009. 107 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo. 2009.
- FLORA DO BRASIL 2020 (em construção). **Bromeliaceae.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB6361>>. Acesso em: 20 Fev. 2020.
- GILMARTIN, A. J.; BROWN, G. K. Bromeliales, related monocots, and resolution of relationships among Bromeliaceae subfamilies. **Systematic Botany**, New York, v. 12, n. 8, p. 493-500, 1987.
- GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, Arlington, v. 27, n. 4, p. 857-874, 1971.
- HORRES, R.; SCHULTE, K.; WEISING, K.; ZIZKA, G. Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae) – evidence from molecular and anatomical studies. **Aliso**, Claremont, v. 23, n. 1, p. 27-43, 2007.
- HUHN, S. A.; NOGUEIRA, F. M.; FAGUNDES, N. F.; MARIATH, J. E. A. Morphoanatomy of the ovary and ovule in Bromeliaceae subfamily Tillandsioideae and its systematic relevance. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, n. 3, p. 343-361, 2016.
- KARNOVSKY M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cellular Biology**, New York, v. 27, p. 137-138, 1965.
- KRAUSS, B. H. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. II. The leaf. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 110, n. 3, p. 333-404, 1949.
- GOUDA, E. J.; BUTCHER, D. GOUDA, K. (cont.updated) **Encyclopaedia of Bromeliads.** Disponível em: <<http://bromeliad.nl/bromNames/>>. University Botanic Gardens, Utrecht. Acesso em: 20 Mar. 2020.
- LEONI, C. T. H. Anatomia foliar de *Tillandsia complanata* Benth. **Pittleria**, Bogotá, v. 35, n. 1, p. 133-142, 2011.
- MANTOVANI, A.; VENDA, A. K. L.; ALMEIDA, V. R.; COSTA, A. F.; FORZZA, R. C. Leaf anatomy of *Quesnelia* (Bromeliaceae): implications for the systematics of core bromelioids. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 298, n. 4, p. 298-800, 2012.
- MONTEIRO, R. F.; FORZZA, R. C.; MANTOVANI, A. Leaf structure of *Bromelia* and its significance for the evolution of Bromelioideae (Bromeliaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 293, n. 1, p. 53-64, 2011.
- MOSTI, S.; FRIEDMAN, C. R.; PACINI, E.; BRIGHIGNA, L.; PANINI, A. Nectary ultrastructure and secretory modes in three species of *Tillandsia* (Bromeliaceae) that have different pollinators. **Botany**, Ottawa, v. 91, n. 11, p. 786-798, 2013.
- MOSTI, S.; RAFFAELLI, M.; BRIGHIGNA, L. The *Tillandsia* trichome (Bromeliaceae) and its use in species identification. **Webbia**, Firenze, v. 60, n. 2, p. 577-598, 2005.

North, G. B.; Lynch, F. H.; Maharaj, F. D. R.; Phillips, C. A.; Woodside, W. T. Leaf hydraulic conductance for a tank bromeliad: axial and radial pathways for moving and conserving water. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 4, n. e78, 2013.

PAPINI, AI.; TANI, G.; FALCO, P. D.; BRIGHIGNA, L. The ultrastructure of the development of *Tillandsia* (Bromeliaceae) trichome. **Flora**, Amsterdam, v. 205, n. 1, p. 94-100, 2010.

PONTES, R. A. S.; AGRA, M. F. Flora da Paraíba, Brasil: *Tillandsia* L. (Bromeliaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 1, p. 47-61, 2006.

PROENÇA, S. L.; SAJO, M. G. Anatomia foliar de bromélias ocorrentes em áreas de cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 657-673, 2007.

PROENÇA, S. L.; SAJO, M. G. Estrutura foliar de espécies de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 319-331, 2004.

R CORE TEAM. **R A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2018.

RUEDEN, C. T.; SCHINDELIN, J.; HINER, M. C.; DEZONIA, B. R.; WALTER, A. E.; ARENA, E. T.; ELICEIRI, K. W. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data, **BMC Bioinformatics**, London, v. 18, n. 529, p. 1-26, 2017.

RAUH, W. Bromelienstudien. I. Neue und wenig bekannte Arten aus Peru und anderen Ländern (18 Mitteilung). **Tropische und Subtropische Pflanzenwelt**, Struttgart, v. 58, p. 715-773, 1986.

RIBEIRO, M. N. O.; CARVALHO, S. P.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 2, p.354-361, 2012.

ROBINSON H. A monograph on foliar anatomy of the genera *Connelia*, *Cottendorfia*, and *Navia* (Bromeliaceae). **Smithsonian Contributions to Botany**. Washington, v. 2, p. 1-41, 1969.

ROHLF, F. J.; FISHER, D. L. Test for hierarchical structure in random data sets. **Systematic Zoology**, New York, v. 17, n. 4, p. 407-412, 1968.

SAJO, M. G.; MACHADO, S. R.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Aspectos estruturais de folhas de bromélias e suas implicações no agrupamento de espécies. In: LEME, E. M. C. (Ed.). **Bromélias da Mata Atlântica: Canistropsis**. Rio de Janeiro: Salamandra Consultoria Editorial Ltda, pp. 102-111, 1998.

SANTOS, F.C; TECHIO, V.H; FREITAS, A.S; CASTRO, E.M; DAVIDE, L.V; SOUZA SOBRINHO, F. Adaptive leaf anatomical characteristics of *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae) genotypes in different environments. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 35, n. 4, p. 579-58, 2013.

SCATENA, V .L.; SEGECIN, S. Anatomia foliar de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 635-649, 2005.

- SEGECIN, S.; SCATENA, V. L. Anatomia de escapos de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais do Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 515-525, 2004a.
- SEGECIN, S.; SCATENA, V. L. Morfoanatomia de rizoma e raízes de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, PR, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 253-260, 2004b.
- SILVA, K. R.; VERSIEUX, L. M.; ORIANI, A. Anatomy of vegetative organs, inflorescence axis and pedicel in the *Neoregelia bahiana* complex (Bromeliaceae): taxonomic and ecological importance. **Nordic Journal of Botany**, Malden, v. 36, p. e01800, 2018.
- SILVA, I. V.; SCATENA, V. L. Anatomia foliar de espécies de Bromeliaceae (Poales) da Amazônia, Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v. 9, n. 2, p. 225-240, 2011.
- SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, New York. v. 14, n. 2, p. 663-1492, 1977.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Utrecht, v.11, n.1, p.33-40, 1962.
- SOUSA, G. M.; ESTELITA, M. E. M.; WANDERLEY, M. G. L. Leaf anatomy of Brazilian species of *Aechmea* subgenus *Chevaliera* (Gaudich. ex Beer) Baker, Bromelioideae-Bromeliaceae. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 603-613, 2005.
- SOUZA, S.O. **Aspectos morfoanatômicos e reprodutivos de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) ocorrentes na Bahia, Brasil**. 2020. 87 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 2020.
- STEFANO, M; PAPINI, A.; BRIGHIGNA, L. A new quantitative classification of ecological types in the bromeliad genus *Tillandsia* (Bromeliaceae) based on trichomes. **Revista de Biologia Tropical**, San Jose, v. 56, n. 1, p. 191-203, 2008.
- STREHL, T. Forma, distribuição e flexibilidade dos tricomas foliares usados na filogenia de Bromeliáceas. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 31, n. 1, p. 105-119, 1983.
- TOMLINSON, P. B. Comelinales - Zingiberales. In: METCALFE, C. R. (Ed.). **Anatomy of the monocotyledons: III**. Oxford: Clarendon Press, pp. 193-294, 1969.
- VERSIEUX, L. M.; ELBL, P. M.; WANDERLEY, M. G. L.; MENEZES, N. L. 2010. *Alcantarea* (Bromeliaceae) leaf anatomical characterization and its systematic implications. **Nordic Journal of Botany**, Malden, v. 28, n. 4, p. 385-397, 2010.
- VERSIEUX, L. M.; MEDEIROS, A. S. M. Leaf anatomical characterization of *Guzmania* Ruiz & Pav. and *Mezobromelia* L.B.Sm. (Tillandsioideae, Bromeliaceae). **Journal of the Bromeliad Society**, Orlando, v. 67, n. 1, p. 8-26, 2018.

VOLTOLINO, C. H.; SANTOS, M. Variações na morfoanatomia foliar de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae) sob distintas condições ambientais. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 25, p. 2-10, 2011.