



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



Raquel Inocente Magalhães

**MORFOANATOMIA DA SEMENTE EM ESPÉCIES DE *TILLANDSIA* L. E *VRIESEA*
LINDL. (BROMELIACEAE - TILLANDSIOIDEAE)**

Porto Alegre

2011



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



Raquel Inocente Magalhães

**MORFOANATOMIA DA SEMENTE EM ESPÉCIES DE *TILLANDSIA* L. E *VRIESEA*
LINDL. (BROMELIACEAE - TILLANDSIOIDEAE)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Botânica.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araujo Mariath

Porto Alegre

2011

“... and as my mind begins to spread its wings, there is no stopping curiosity.”

Trecho da música *Upside down* – Jack Johnson

*Dedico este trabalho
a todos aqueles que tiveram a coragem
de mudar seus planos e seguir em frente.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por passarem adiante os valores que carrego comigo, por compreenderem a minha ausência, por sempre confiarem em minhas escolhas e por entenderem que o mundo é muito pequeno para alguém com sonhos tão grandes.

A minha irmã Roberta e ao meu cunhado André, por vibrarem com as minhas conquistas e por me mostrarem que não se deve temer o dia de amanhã, pois as mudanças sempre virão para acrescentar. Roberta, obrigada pelas correções, pelas verbas extras e por sempre cuidar dos nossos pais.

Ao meu noivo Pedro Durigon, pela paciência nos meus dias de mau-humor, por me acompanhar nas indiadas aos finais de semana, por acreditar na minha capacidade e por respeitar o meu espaço e as minhas escolhas. Obrigada por fazer parte da minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araujo Mariath, por ter me aceito como orientada, pela disponibilidade e por todos os ensinamentos nesses anos de convivência.

Aos colegas e professores do Laboratório de Anatomia Vegetal, pela troca de experiências. Em especial à técnica Juliana Troleis, por estar sempre disposta a ajudar, e as queridas colegas de laboratório, Claudete Pacheco, Roberta dos Anjos e Sofia Kuhn, pelos almoços divididos e pelos momentos de descontração.

Às amigas Anelise Hertzog, Carla Maria Garlet de Pelegrin, Fernanda dos Santos Silva, Greta Aline Dettke e Natividade Ferreira Fagundes, pelo apoio durante a execução do projeto, pelas “opiniões filosóficas”, muitas vezes acompanhadas de porcarias comestíveis, e acima de tudo, pelo laço de amizade que pudemos construir. Vocês contribuíram imensamente para a minha formação como profissional e como pessoa. Muito obrigada!

APOIO:



PREFÁCIO

A presente dissertação foi organizada em formato de artigos, contidos em capítulos.

O Capítulo I está formatado segundo o estabelecido pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e contém o referencial teórico, organizado em seções. Na primeira seção, são contemplados os aspectos morfológicos, ecológicos, taxonômicos e filogenéticos da família. Na segunda seção, são destacadas as características utilizadas na delimitação da subfamília Tillandsioideae e dos gêneros estudados. Na terceira seção, estão os objetivos do trabalho realizado. No final do Capítulo são listadas as referências utilizadas na elaboração do mesmo.

O Capítulo II é composto por um manuscrito que será submetido sob forma de artigo, ao periódico *Plant Systematics and Evolution*, abordando os aspectos morfológicos, anatômicos e histoquímicos das sementes maduras de espécies de *Tillandsia* L. e *Vriesea* Lindl.

O Capítulo III contém o manuscrito que será submetido, como uma nota científica, ao periódico *Acta Botanica Brasilica*, salientando a importância do uso das características morfológicas e anatômicas da semente para a interpretação do comportamento germinativo das mesmas.

Com o intuito de facilitar a posterior publicação, os manuscritos estão formatados segundo as normas dos periódicos aos quais serão submetidos, com exceção das margens e do tamanho das fontes do texto.

O Capítulo IV inclui as considerações finais acerca do trabalho realizado.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – Referencial Teórico	12
1.1 Bromeliaceae Juss.	13
1.1.1 Taxonomia e sistemática filogenética	15
1.1.2 Estudos morfológicos e anatômicos	17
1.2 Características de Tillandsioideae e dos gêneros estudados	19
1.2.1 <i>Tillandsia</i> L.	21
1.2.2 <i>Vriesea</i> Lindl.	22
1.3 Objetivos	24
1.3.1 Objetivo geral	24
1.3.2 Objetivos específicos	24
Referências	26
CAPÍTULO II - Morfoanatomia da semente e sua relevância na sistemática de Tillandsioideae (Bromeliaceae)	32
Resumo	33
Introdução	34
Material e Métodos	36
Resultados	38
Discussão	42
Referências	47
CAPÍTULO III - Uso da morfoanatomia na interpretação do comportamento germinativo das sementes de <i>Tillandsia</i> L. e <i>Vriesea</i> Lindl.	59
Abstract	61
Resumo	61
Introdução	62
Material e Métodos	62
Resultados	63

Discussão	64
Referências	66
CAPÍTULO IV - Considerações Finais	73

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I – Referencial Teórico

Figura 1. Características gerais da família.	14
Figura 2. Arranjo atual das subfamílias de Bromeliaceae.	16
Figura 3. Rearranjo de Tillandsioideae.	20
Figura 4. Espécies analisadas de <i>Tillandsia</i> L.	22
Figura 5. Espécies analisadas de <i>Vriesea</i> Lindl.	23

CAPÍTULO II - Morfoanatomia da semente e sua relevância na sistemática de Tillandsioideae (Bromeliaceae)

Fig. 1 Aspecto geral e envoltórios das sementes de <i>Vriesea</i> Lindl. e <i>Tillandsia</i> L.	52
Fig. 2 Características dos apêndices de <i>Vriesea</i> Lindl. e <i>Tillandsia</i> L.	53
Fig. 3 Endosperma de <i>Vriesea</i> Lindl. e <i>Tillandsia</i> L.	54
Fig. 4 Proporção endosperma/embrião.	55
Fig. 5 Características dos embriões de <i>Vriesea</i> Lindl. e <i>Tillandsia</i> L.	56
Fig. 6 Radícula do embrião das espécies de <i>Tillandsia</i> L.	57
Fig. 7 Substâncias de reserva no embrião.	58

CAPÍTULO III - Morfoanatomia na interpretação do comportamento germinativo das sementes de *Tillandsia* L. e *Vriesea* Lindl.

Figuras 1-4. Anatomia das sementes de <i>Vriesea</i> Lindl. e <i>Tillandsia</i> L.	70
Figuras 5-8. Comportamento germinativo das sementes de <i>Tillandsia</i> L. e <i>Vriesea</i> Lindl. ...	71
Figuras 9-15. Comportamento germinativo das sementes de <i>Vriesea</i> Lindl.	72

RESUMO

Bromeliaceae possui aproximadamente 3100 espécies, pertencentes a 58 gêneros. Durante muitos anos, características morfológicas delimitaram as subfamílias Bromelioideae, Pitcairnioideae e Tillandsioideae. Caracteres moleculares complementados por dados morfológicos, atualmente, delimitam oito subfamílias: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae. Estudos moleculares recentes comprovaram a monofilia de Tillandsioideae, contudo *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. não são monofiléticos. Esses gêneros são distintos apenas pela presença ou ausência de apêndices petalíneos. Tal característica é insuficiente para delimitar grandes grupos, sendo necessária a adição de caracteres que contribuam para melhorar suas circunscrições. É sabido que as características morfológicas reprodutivas tem menor plasticidade fenotípica do que as vegetativas e, quando associadas a dados moleculares geram filogenias mais confiáveis. Tendo em vista a situação atual dos gêneros, o objetivo do presente estudo foi descrever morfoanatomicamente sementes maduras de espécies de *Vriesea* e *Tillandsia*, buscando padrões estruturais distintivos. Assim como, comparar as características morfoanatômicas das sementes maduras com a morfologia das plântulas, visando compreender o comportamento germinativo das sementes. Para tal, sementes de frutos recém abertos foram coletadas em municípios do Rio Grande do Sul e na Coleção de Bromeliaceae do Jardim Botânico de Porto Alegre. O material botânico foi processado seguindo protocolos já testados em estudos anatômicos e analisado em microscopia fotônica e eletrônica de varredura. No experimento de germinação foram utilizados métodos consagrados em estudos germinativos. As sementes analisadas possuem formato filiforme e fusiforme, correspondendo a *Vriesea* e *Tillandsia*, respectivamente. Todas as espécies apresentam sementes com apêndices plumosos em posição basal, mas diferem no arranjo estrutural. É notável também, a diferença na relação quantidade de endosperma/tamanho do embrião e no tipo de substâncias armazenadas tanto no embrião, quanto no endosperma das sementes. No eixo hipocótilo-radícula do embrião das espécies de *Tillandsia* analisadas há uma região formada por células com conteúdo citoplasmático alterado e com deposição de lipídios em suas paredes, denominada de zona de constrição. Tal região não é observada nos embriões das espécies de *Vriesea*. Muitas tillandsias habitam locais cujas condições ambientais são pouco favoráveis ao estabelecimento de plântulas. A zona de constrição acarreta o aborto precoce da radícula do embrião, sendo uma importante característica adaptativa dessas espécies. A germinação das sementes aqui analisadas não é iniciada com o desenvolvimento da raiz primária. Por outro lado, estudos anteriores relataram a presença de raiz primária em espécies de *Vriesea*. Isso demonstra uma possível variação na germinação das sementes dentro do mesmo gênero, sendo necessário muito cuidado na interpretação dos testes e no uso de caracteres morfológicos de plântulas para fins taxonômicos. A partir dos resultados obtidos, sugere-se que inferências taxonômicas baseadas na utilização de plântulas sejam sempre associadas ao estudo morfoanatômico da semente, evitando generalizações precipitadas para Bromeliaceae. É importante salientar que a adição de caracteres, com o intuito de estabelecer limites genéricos mais consistentes em Tillandsioideae, é indispensável. Portanto, aqui são apresentados dados morfológicos e anatômicos informativos e passíveis de utilização em análises filogenéticas. Além de ampliar o conhecimento morfológico e anatômico de sementes e, incentivar estudos que visem o acréscimo de caracteres reprodutivos distintivos.

Palavras-chave: Anatomia da semente; Monocotiledôneas; Morfologia; Plântulas.

ABSTRACT

Bromeliaceae comprises about 3100 species, placed in 58 genera. For many years, morphological features were used to define the subfamilies Bromelioideae, Pitcairnioideae and Tillandsioideae. Based mainly on molecular data, the family is now divided into eight subfamilies: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae and Bromelioideae. Recently, the monophyly of Tillandsioideae was confirmed. However, *Vriesea* and *Tillandsia* are not monophyletic. These genera are distinguished only by the presence or absence of petal appendages. This feature alone is not enough to circumscribe major groups, requiring additional characters that help to improve their circumscriptions. It is known that reproductive features are less plastic than the vegetative ones and, when associated with molecular data, they produce more reliable phylogenies. Considering the current status of the genera, the aim of this work is to describe the morphology and anatomy of the mature seeds of *Vriesea* and *Tillandsia*, looking for distinctive structural patterns, as well as to compare the seed morphoanatomy with the morphology of their seedlings, in order to help the understanding of their germination behavior. Thus, seeds from ripened fruits were collected in counties of Rio Grande do Sul and in the Collection of Bromeliaceae of the Botanical Garden of Porto Alegre. The samples were processed according to standard protocols and examined under light and scanning electron microscopy. The seeds are filiform and fusiform, corresponding to *Vriesea* and *Tillandsia*, respectively. All seeds are plumose, with basal appendages that differ in structural arrangement. It is also remarkable, the difference between the amount of endosperm/ embryo size and the storage compounds present in both, endosperm and embryo. The embryo hypocotyl-radicle axis of *Tillandsia* consists of cells with modified cytoplasmatic content and with deposition of lipids in their walls. This region is called the “constriction zone” and is not observed in embryos of *Vriesea*. Tillandsias inhabit many places in which the environmental conditions are not always favorable to the seedling establishment. The “constriction zone” leads to the early abortion of the embryo radicle and is an important adaptive feature of these species. The germination of the seeds analyzed here does not begin with the development of a primary root. Moreover, previous works have reported the presence of primary root in some *Vriesea* species. It demonstrates a possible distinction in the germination behavior within the same genus, requiring a very careful interpretation of the tests results mainly when used in a taxonomic point of view. Our results suggest that taxonomic inferences based on seedlings morphological data should be always associated with morphological and anatomical features of these seeds, avoiding precipitated generalizations to Bromeliaceae. Notably, the addition of distinctive reproductive features to Tillandsioideae is crucial. Here, we present informative morphological and anatomical features that may be used on phylogenetic analysis. We also contribute to the understanding of some seeds morphological and anatomical aspects and, encourage new studies that intend to add more reproductive data.

Keywords: Monocots; Morphology; Seed Anatomy; Seedlings.

CAPÍTULO I

Referencial Teórico

1.1 BROMELIACEAE JUSS.

Bromeliaceae, atualmente, contempla 58 gêneros e aproximadamente 3100 espécies (Luther, 2008). Recentemente, as antigas subfamílias Bromelioideae, Pitcairnioideae e Tillandsioideae, delimitadas por características morfológicas das folhas, das flores, dos frutos e das sementes (Smith & Downs, 1974), foram rearranjadas em oito subfamílias, delimitadas, principalmente, por caracteres moleculares (Givnish *et al.*, 2007).

Os primeiros representantes da família surgiram no Escudo das Guianas, há cerca de 70 milhões de anos. Provavelmente, eram plantas terrícolas, com fotossíntese C3, que habitavam ambientes úmidos e pobres em nutrientes. Há aproximadamente 15 milhões de anos invadiram as áreas mais secas da América Central e do Sul, coincidindo com as primeiras adaptações ao epifitismo e a fotossíntese CAM. Ambas as adaptações teriam surgido mais de uma vez na família, provavelmente em resposta a alterações climáticas e geológicas (Crayn *et al.*, 2004; Givnish *et al.*, 2007).

A família possui espécies bem adaptadas a ambientes xéricos e méxicos. Seus representantes são excelentes colonizadores, compreendendo plantas terrícolas, rupícolas e epífitas (Benzing, 2000) (Fig. 1 A-C). As espécies epífitas estão distribuídas em duas linhagens: plantas C3, condição considerada ancestral que ocorre em Tillandsioideae, e plantas CAM, em Bromelioideae e epífitas extremas (Crayn *et al.*, 2004).

Atualmente, as bromeliáceas podem ser encontradas do Sul da América do Norte até a Patagônia, no Sul da América do Sul. A espécie *Pitcairnia feliciana* (A.Chev.) Harms & Mildbr. é a única da família com ocorrência fora dos Neotrópicos e, provavelmente chegou a Guiné, na costa Oeste do continente Africano, por dispersão a longa distância (Smith & Downs, 1974; Givnish *et al.*, 2004).

A inserção das folhas no caule é uma das características mais marcantes dessas plantas (Fig. 1 D). Os caules apresentam entrenós pouco desenvolvidos, com folhas inseridas em espiral, formando uma roseta. As folhas são simples, com margens inteiras em Tillandsioideae e serradas a espinescentes, em Bromelioideae e Pitcairnioideae. A cor verde das folhas pode ser mascarada pela presença de antocianina ou de tricomas especializados na absorção de água e de nutrientes, denominados de escamas peltadas (Fig. 1 D). As raízes, principalmente nas espécies epífitas, servem como elemento de fixação, uma vez que, a absorção de nutrientes é realizada pelas escamas peltadas. As flores são trímeras e estão agrupadas em

inflorescências simples ou compostas (Fig. 1 E-F). O ovário é tricarpelar, trilocular, com rudimentos seminiais anátropos e bitegmentados, na maioria das vezes, com apêndices calazais. Nectários septais estão sempre presentes. Os frutos podem ser: bagas contendo sementes nuas, quando são oriundos de flores com ovário ínfero, ou cápsulas com sementes aladas ou plumosas, quando são oriundos de flores com ovário semi-ínfero ou súpero (Fig. 1 G-I) (Smith & Downs, 1974; Smith & Till, 1998; Benzing, 2000).

Bromeliaceae é uma das famílias de maior diversidade e riqueza da Mata Atlântica. Martinelli *et al.* (2008) identificaram 803 espécies pertencentes a 31 gêneros, sendo *Vriesea* Lindl., *Aechmea* Ruiz & Pav. e *Neoregelia* L.B.Sm. os que apresentaram maior riqueza de espécies. Por outro lado, constataram que 40% dessas espécies estão classificadas em alguma categoria de ameaça e que mais de 80% estão localizadas em corredores ecológicos. A partir dos resultados obtidos enfatizaram a necessidade de elaborar medidas que aumentem o número de corredores e evitem a fragmentação da floresta. Caso contrário, o número de espécies ameaçadas de extinção na natureza pode aumentar significativamente.

Além de contribuir com a biodiversidade, a família apresenta outros papéis que demonstram a sua importância na manutenção de ciclos biológicos e ecológicos. O néctar abundante das flores e os frutos do tipo baya servem como fonte de alimento para diversos grupos de animais (Reitz, 1983; Bernardello *et al.*, 1991).

Representantes de Tillandsioideae, como *Tillandsia recurvata* (L.) L. e *T. usneoides* (L.) L., são considerados importantes bioindicadores de poluição atmosférica. Isso se deve a grande quantidade de escamas peltadas nas folhas dessas plantas, que possibilitam a absorção de metais pesados presentes no ar (Graciano *et al.*, 2003; Figueiredo *et al.*, 2004; Viana *et al.*, 2010). Além do monitoramento da qualidade do ar, as folhas das bromeliáceas são importantes constituintes da serapilheira da Mata Atlântica, contribuindo sobremaneira para a ciclagem de nutrientes (Oliveira, 2004).

Na década de 1950, muitas das espécies formadoras de cisternas foram associadas à disseminação da malária. O acúmulo de água da chuva e de detritos orgânicos no interior da roseta propicia a formação de um micro-habitat, que abriga uma grande variedade de seres vivos, inclusive as larvas do mosquito transmissor da malária. Por este motivo, muitas bromeliáceas foram consideradas um risco à saúde pública e, conseqüentemente, destruídas pelo uso de herbicidas e removidas de seus habitats naturais (Reitz, 1983).



Figura 1. Características gerais da família. (A-C) Hábitos. (A) Epifítico. (B) Rupícola. (C) Terrícola. (D) Aspecto das folhas e detalhe da escama peltada. (E-F) Inflorescências e flores. (E) Inflorescência de *Vriesea gigantea* Gaudich., com detalhe da flor. (F) Inflorescência de *Tillandsia tricholepis* Baker, com detalhe da flor. (G-I) Tipos de Frutos. (G) Baga de *Billbergia zebrina* (Herb.) Lindl. – Bromelioideae. (H) Cápsula de *Tillandsia geminiflora* Brogn. – Tillandsioideae. (I) Cápsula de *Dyckia remotiflora* Otto & Dietr. – Pitcairnioideae. (A-H - Fotos originais; D (escama peltada) - Foto cedida pelo LAVeg; I - Foto cedida por Fernanda dos Santos Silva).

Do mesmo modo, atualmente, existem especulações sobre o possível desenvolvimento das larvas do mosquito transmissor da dengue. Batista (2010) demonstrou que apesar de serem criadouros em potencial, na área urbana as cisternas das bromélias ainda não são os

locais preferenciais para a oviposição. No entanto, podem ser fontes de disseminação da doença em áreas rurais ou na área urbana, caso não existam outros criadouros preferenciais (como pneus e caixas d'água).

1.1.1 Taxonomia e sistemática filogenética

Bromeliaceae foi estabelecida por Jussieu no ano de 1789. Anos depois, Beer (1857) com base na morfologia das inflorescências sugeriu a sua divisão em três tribos (Bromelieae, Ananassaeae e Diaphoranthemeae). Wittmack (1888) reorganizou a família em quatro tribos (Bromelieae, Pitcairnieae, Puyae e Tillandsieae) e Baker (1889) recomendou a união de Puyae e Pitcairnieae, permanecendo as tribos Bromelieae, Pitcairnieae e Tillandsieae.

Mez (1894) utilizando características como a posição do ovário, o tipo de fruto e de semente, também considerou as tribos Bromelieae, Pitcairnieae e Tillandsieae. Em 1930, Harms com base nos mesmos caracteres usados por Mez (1894), elevou as três tribos em nível de subfamília e sugeriu a adição de uma quarta subfamília. Dessa forma, eram reconhecidas Bromelioideae, Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Navioideae.

Mez (1935) reorganizou a família e propôs que Navioideae fosse incluída em Pitcairnioideae. Então, foram adotadas as três subfamílias: Bromelioideae, Tillandsioideae e Pitcairnioideae, com subdivisões em tribos. Nos anos de 1974, 1977 e 1979, Smith & Downs publicaram a maior obra de revisão taxonômica conhecida para Bromeliaceae. Nesse trabalho, foram mantidas as subfamílias Bromelioideae, Tillandsioideae e Pitcairnioideae sugeridas por Harms (1930) e Mez (1935), mas sem a subdivisão em tribos.

Cronquist (1988) a partir de caracteres morfológicos incluiu Bromeliaceae na ordem Bromeliales. No entanto, estudos filogenéticos baseados em caracteres moleculares inseriram a família na ordem Poales, sendo precocemente divergente, assim como, Typhaceae e Rapateaceae (APG III, 2009). A posição que Bromeliaceae ocupa dentro de Poales ainda é motivo de muitas discussões.

A monofilia do grupo é um consenso entre pesquisadores e foi comprovada por estudos morfológicos (Gilmartin & Brown, 1987) e moleculares (Ranker *et al.*, 1990; Horres *et al.*, 2000; Givnish *et al.*, 2007; Sass & Specht, 2010). No entanto, as relações filogenéticas entre os gêneros e entre as espécies ainda não são claras, gerando opiniões divergentes.

Givnish *et al.* (2007) usando sequencias de genes plastidiais estabeleceram um novo arranjo para a família (Fig. 2). Considerando que, a subfamília Pitcairnioideae não era monofilética, propuseram seu rearranjo e determinaram seis novos grupos. Desta forma, Bromeliaceae foi dividida em oito subfamílias (Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae). Bromelioideae e Tillandsioideae permaneceram sem alterações, pois já eram grupos naturais na antiga circunscrição, e Brocchinioideae foi adotada como grupo-irmão das demais. Acredita-se que o arranjo proposto por Givnish *et al.* (2007) evidencie a real relação entre os grupos, pois todas as subfamílias passaram a ser monofiléticas.

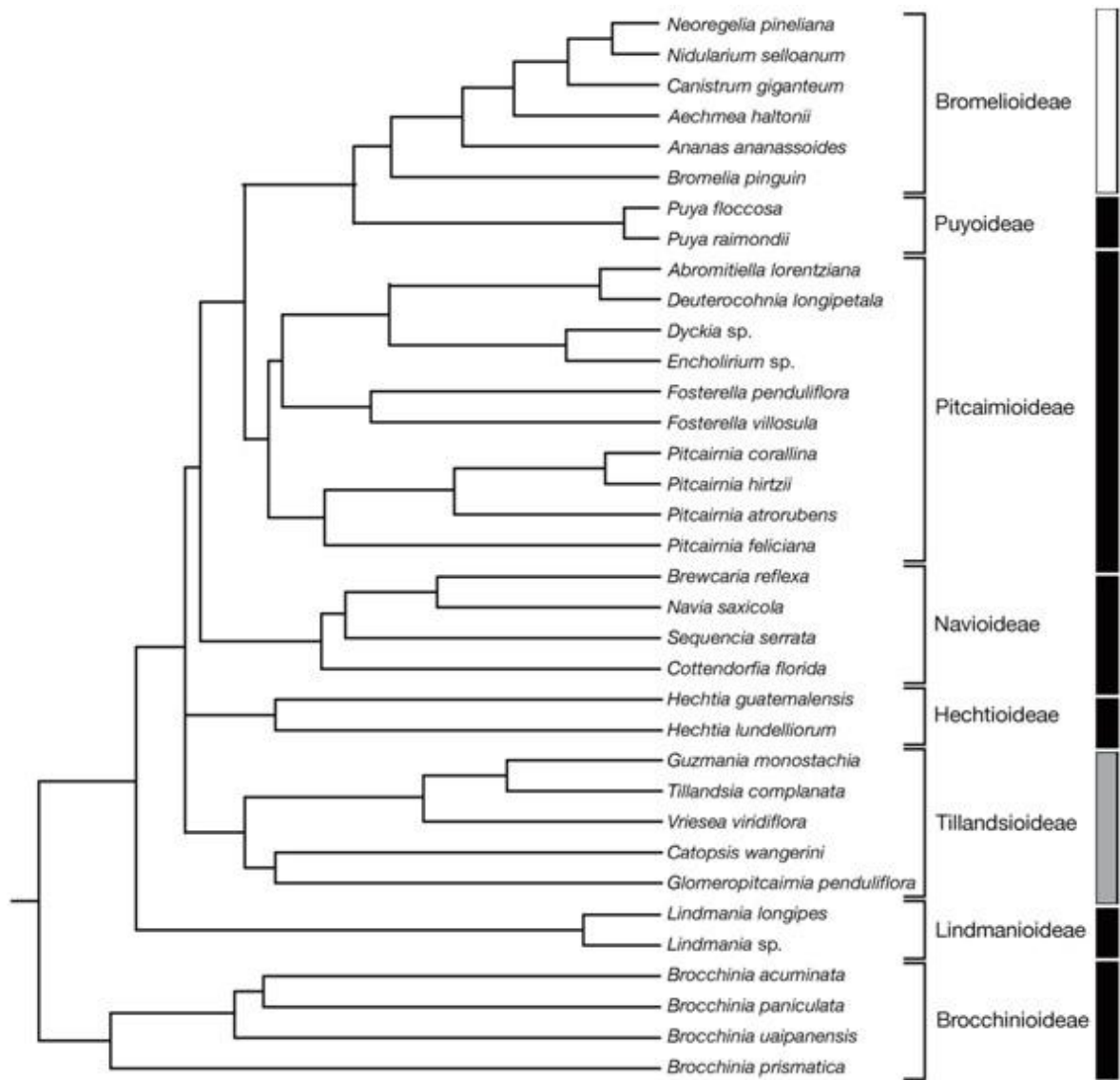


Figura 2. Arranjo atual das subfamílias de Bromeliaceae. As barras indicam os membros das subfamílias tradicionais e demonstram a segregação ocorrida em Pitcairnioideae (Retirado de Givnish *et al.*, 2007, p. 9).

1.1.2 Estudos morfológicos e anatômicos

Devido ao grande potencial ornamental, a descoberta de substâncias de uso farmacêutico (Manetti *et al.*, 2009) e ao alto grau de ameaça de extinção na natureza (Martinelli *et al.*, 2008), não são raros os estudos sobre Bromeliaceae. No entanto, ainda existem muitas dúvidas a serem esclarecidas, principalmente no que diz respeito à sistemática da família.

Os trabalhos morfológicos e anatômicos, em sua maioria, analisaram as partes vegetativas dessas plantas, sendo as folhas os órgãos mais explorados. Alguns realizaram apenas estudos descritivos, outros buscaram características distintivas que melhorassem a delimitação de grupos taxonômicos, ou interpretaram as características anatômicas e fisiológicas na tentativa de compreender as adaptações dessas plantas ao ambiente (Tomlinson, 1969; Strehl, 1983; Arruda & Costa, 2003; Proença & Sajo, 2004, 2007).

As estruturas reprodutivas são descritas em trabalhos embriológicos clássicos, como os realizados por Billings (1904), Laksmanan (1967) e Wee & Rao (1979). Recentemente, Sajo *et al.* (2004b), Mendes *et al.* (2010) e Fagundes & Mariath (2010) contribuíram com informações detalhadas sobre a morfologia de rudimentos seminiais, a embriologia de espécies ameaçadas e a ontogenia de frutos, respectivamente.

Apesar de existirem diversos estudos sobre a germinação de sementes de Bromeliaceae, principalmente aqueles que buscam melhores temperaturas e substratos para o desenvolvimento de mudas (Mondragon & Calvo-Irabien; Toledo-Aceves & Wolf, 2008; Goode & Allen, 2009; Mantovani & Iglesias, 2010), a abordagem morfológica e anatômica da semente madura é rara. A falta de informações sobre essas estruturas em Bromeliaceae é problemática, visto que a maioria dos dados sobre sementes são referentes a monocotiledôneas da família Poaceae (Cecchi Fiordi *et al.*, 2001).

Em Pitcairnioideae, é possível destacar o estudo de Varadarajan & Gilmartin (1988), que realizou inferências evolutivas fundamentadas em caracteres morfológicos das sementes de 75 espécies, pertencentes a 14 gêneros. Além das observações de Strehl & Beheregaray (2006), que analisaram 12 espécies do gênero *Dyckia* Schult.f e estabeleceram padrões morfológicos das sementes, que permitiram o agrupamento das espécies estudadas.

Em Tillandsioideae, Cecchi-Fiordi *et al.* (1996) caracterizaram as alterações ocorridas no eixo hipocótilo-radícula das sementes de *T. flabelata* Back. e *T. schiedeana*

Steud. Em outro estudo apontaram as modificações ocorridas nas substâncias armazenadas nas sementes de *T. juncea* (Ruiz & Pav.) Poir., *T. fasciculata* Sw. e *T. complanata* Benth. durante o processo de germinação (Cecchi-Fiordi *et al.*, 2001). Morra *et al.* (2002) caracterizaram sucintamente a anatomia do pericarpo e da semente de *T. tricholepis* Baker e, Palací *et al.* (2004) descreveram o desenvolvimento de sementes dos gêneros *Catopsis* Griseb. e compararam com o desenvolvimento de *T. complanata*. Seus resultados evidenciaram diferenças na origem dos apêndices plumosos das sementes, demonstrando a importância do conhecimento mais aprofundado sobre essas estruturas em Tillandsioideae, subfamília cuja circunscrição é muito problemática.

Gross (1988) analisou a micromorfologia de sementes de 219 espécies de Bromeliaceae e demonstrou a riqueza de caracteres que tais estruturas fornecem. Para Tillandsioideae, destacou a necessidade de um maior número de informações, devido a grande variação encontrada nas sementes das espécies representantes dos gêneros dessa subfamília. Além disso, salientou que por serem menos plásticos, isto é, pouco influenciados por alterações ambientais, essas estruturas são bastante úteis na distinção de táxons e na realização de inferências evolutivas.

1.2 CARACTERÍSTICAS DE TILLANDSIOIDEAE E DOS GÊNEROS ESTUDADOS

Os membros de Tillandsioideae são plantas herbáceas, em sua maioria epífitas. Seus centros de diversidade estão no Norte dos Andes até o México e Antilhas, e no Sudeste do Brasil (Benzing, 2000).

A subfamília é caracterizada por abrigar espécies com folhas de margens inteiras, dispostas, geralmente, em espiral. O ovário é súpero, com exceção de *Glomeropitcairnia* Mez. Os frutos são do tipo cápsula septicida, com sementes portadoras de apêndices plumosos localizados na base, no ápice ou em ambas as extremidades da semente (Smith & Downs, 1977; Smith & Till, 1998; Benzing, 2000).

Na subfamília, os espécimes em frutificação são difíceis de identificar. Após a perda de partes florais, as tillandsias com folhas liguladas são semelhantes às vrieseas e as vrieseas com folhas triangulares são semelhantes às tillandsias (Smith & Downs, 1974). Tais similaridades tornam o uso de caracteres morfológicos vegetativos, algumas vezes, insuficiente para esclarecer conflitos taxonômicos.

Desde o estabelecimento de Bromeliaceae diversas mudanças taxonômicas foram sugeridas para Tillandsioideae. Algumas delas foram baseadas apenas em pequenas diferenças morfológicas, como a presença ou a ausência de apêndices petalíneos, ou na forma e no tamanho das folhas (Brown & Terry, 1992; Espejo-Serna, 2002; Barfuss *et al.*, 2005). Ao longo dos anos, essas alterações tornaram a circunscrição da subfamília cada vez mais confusa.

Após a classificação de Smith & Downs (1977), Smith & Till (1998) utilizando dados morfológicos e moleculares recomendaram que Tillandsioideae fosse subdividida em nove gêneros, sendo eles: *Alcantarea* (E. Morren ex Mez) Harms, *Catopsis*, *Glomeropitcairnia*, *Guzmania* Ruiz & Pav., *Mezobromelia* L.B.Sm., *Racinaea* M. A. Spencer & L. B. Sm., *Tillandsia* L., *Vriesea* Lindl. e *Werauhia* J. R. Grant.

Barfuss *et al.* (2005) levaram em consideração os frequentes problemas na circunscrição de gêneros e o reconhecimento de *Guzmania*, *Mezobromelia*, *Tillandsia* e *Vriesea* como grupos artificiais e propuseram a reorganização de Tillandsioideae (Fig. 3). Com base em caracteres moleculares dividiram a subfamília em quatro tribos (Catopsidae, Glomeropitcairnieae, Tillandsieae e Vrieseae). Com o surgimento dessa nova classificação ficou evidente a necessidade de estudos, em diversas áreas, que corroborem, ou não, com a

subdivisão de Tillandsioideae em tribos.

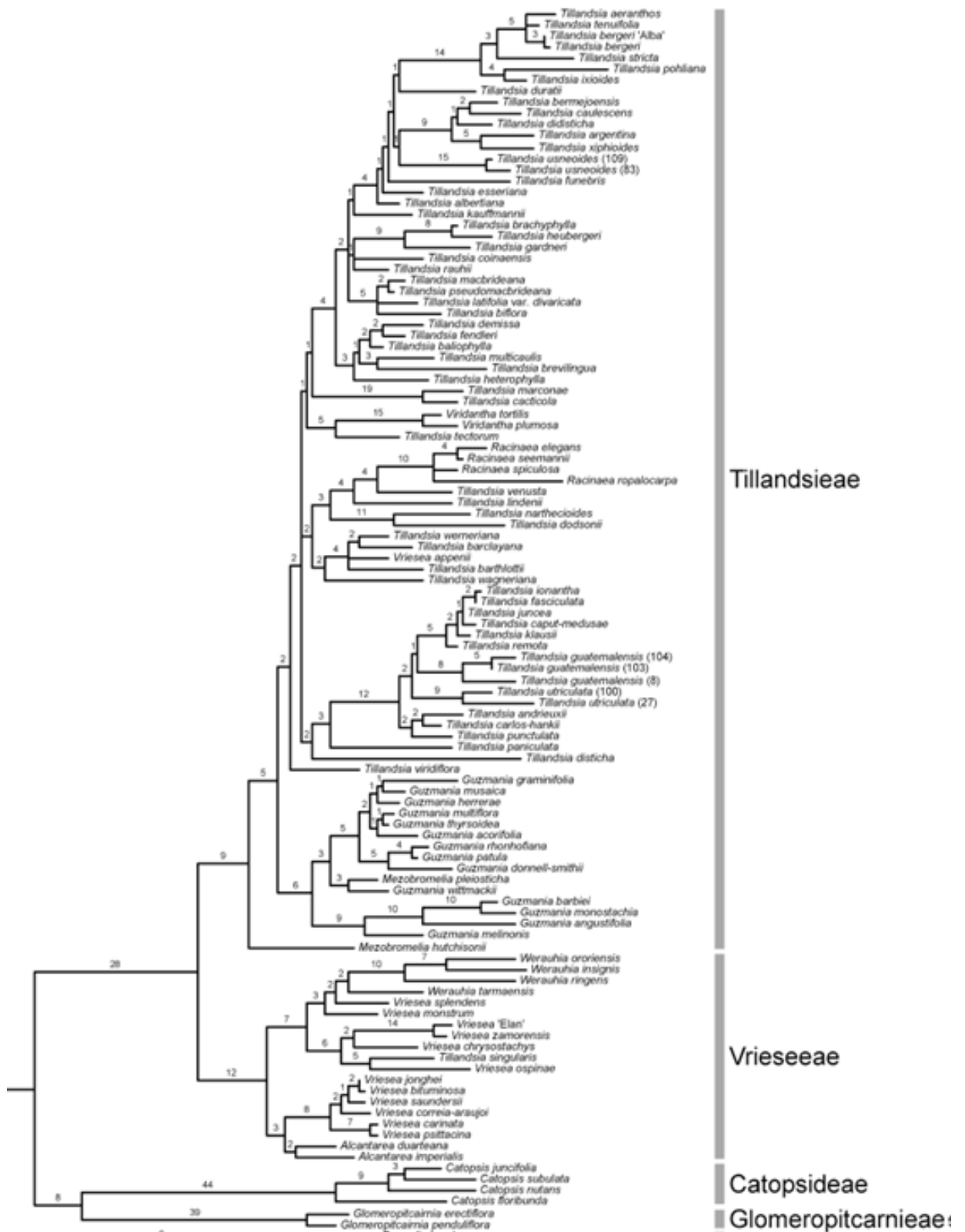


Figura 3. Rearranjo de Tillandsioideae (Barfuss *et al.*, 2005, p. 346).

1.2.1 *Tillandsia* L.

Tillandsia é considerado o maior gênero de toda a família Bromeliaceae, com cerca de 600 espécies (Luther, 2008), das quais 22 são endêmicas da Mata Atlântica brasileira (Martinelli *et al.*, 2008). Dentre os 58 gêneros de Bromeliaceae, *Tillandsia* é o que possui maior amplitude geográfica, sendo encontrado tanto em regiões tropicais como subtropicais das Américas (Smith & Till, 1998; Benzing, 2000). Segundo Haussen (1992), no Rio Grande do Sul são encontradas 18 espécies.

Seus representantes são plantas epífitas, não raro rupícolas, de pequeno porte, com folhas inteiras e acinzentadas, devido a grande quantidade de escamas peltadas (Smith & Downs, 1977; Benzing, 2000). As flores são perfeitas e estão agrupadas em inflorescências ou surgem como flores solitárias. As pétalas não possuem apêndices na base. O ovário é súpero, com rudimentos seminiais, geralmente, caudados. Os frutos são cápsulas septicidas que contém sementes retas, levemente cilíndricas ou fusiformes, com apêndice plumoso basal, liso e branco (Smith & Downs, 1977; Reitz, 1983; Smith & Till, 1998).

De acordo com a classificação de Smith & Till (1998), *Tillandsia* é constituído por seis subgêneros (*Allardtia*, *Anoplophytum*, *Diaphoranthema*, *Phytarrhiza*, *Pseudalcantarea* e *Tillandsia*). Tal classificação é fundamentada em características das pétalas, dos estames e dos pistilos. As espécies de *Tillandsia* analisadas neste trabalho pertencem aos subgêneros *Anoplophytum* e *Diaphoranthema*.

O subgênero *Anoplophytum* inclui as espécies cujas flores possuem estames inclusos, com o comprimento quase igual ao das pétalas. Dentre as espécies analisadas representantes desse subgênero estão: *T. aeranthos* (Loisel.) L.B.Sm., *T. geminiflora* Brogn, *T. stricta* Sol. ex Sims e *T. tenuifolia* L. (Fig. 4 A-D).

O subgênero *Diaphoranthema* compreende as espécies cujas flores possuem estames profundamente inclusos, estreitos e pouco evidentes. Os representantes analisados são: *T. recurvata* e *T. usneoides* (Fig. 4 E-F).



Figura 4. Espécies analisadas de *Tillandsia* L. (A-D) Espécies pertencentes ao subgênero *Anoplophytum*. (A) *T. aeranthos* (Loisel.) L.B.Sm. (B) *T. geminiflora* Brogn. (C) *T. stricta* Sol. ex Sims. (D) *T. tenuifolia* L. (E-F) Espécies pertencentes ao subgênero *Diaphoranthema*. (E) *T. recurvata* (L.) L. (F) *T. usneoides* (L.) L. (Fotos originais).

1.2.2 *Vriesea* Lindl.

Vriesea constitui o segundo maior gênero da subfamília e o terceiro maior da família, com cerca de 260 espécies (Luther, 2008), das quais 145 são endêmicas da Mata Atlântica brasileira (Martinelli *et al.*, 2008). Para o estado do Rio Grande do Sul são conhecidas 18 espécies (Waechter, 2007).

Seus representantes são plantas herbáceas, geralmente, epífitas. As inflorescências são compostas por flores perfeitas e vistosas, com brácteas florais de cores vibrantes. As pétalas possuem apêndices na base. O ovário é súpero e os frutos são do tipo cápsula septicida, contendo sementes de formato fusiforme, com apêndices plumosos em posição basal ou em ambas as extremidades (Smith & Downs, 1977; Reitz, 1983; Smith & Till, 1998).

Levando em consideração a cor das brácteas, a forma das pétalas e a posição dos estames, o gênero é subdividido em duas seções: *Vriesea* e *Xiphion* (Smith & Till, 1998).

A seção *Vriesea* é caracterizada por indivíduos cujas flores possuem estames exsertos e brácteas florais de cores brilhantes. As espécies analisadas desta seção são: *V. carinata* Wawra, *V. corcovadensis* Mez, *V. flammea* L.B.Sm., *V. incurvata* Gaudich., *V. psittacina* Lindl. e *V. rodigasiana* E. Morren (Fig. 5 A-F).

Na seção *Xiphion* estão os indivíduos cujas flores apresentam estames inclusos e brácteas florais de cor verde-opacas ou acastanhadas. Os representantes analisados são: *V. gigantea* Gaudich. e *V. platynema* Gaudich. (Fig. 5 G-H).



Figura 5. Espécies analisadas de *Vriesea* Lindl. (A-F) Espécies pertencentes a Seção *Vriesea*. (A) *V. carinata* Wawra. (B) *V. corcovadensis* Mez. (C) *V. flammea* L.B.Sm. (D) *V. incurvata* Gaudich. (E) *V. psittacina* Lindl. (F) *V. rodigasiana* E.Morren. (G-H) Espécies pertencentes a Seção *Xiphion*. (G) *V. gigantea* Gaudich. (H) *V. platynema* Gaudich. (A-D, F-H - Fotos originais; E - Foto cedida por Greta Aline Dettke).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Caracterizar morfoanatomicamente as sementes maduras de espécies representantes dos gêneros *Tillandsia* L. e *Vriesea* Lindl., demonstrando possíveis padrões estruturais que contribuam para a distinção dos gêneros.

1.3.2 Objetivos específicos

- Analisar e descrever morfoanatomicamente o embrião, o endosperma e os envoltórios das sementes maduras em espécies de *Tillandsia* (*T. aeranthos*, *T. geminiflora*, *T. recurvata*, *T. stricta*, *T. tenuifolia* e *T. usneoides*) e de *Vriesea* (*V. carinata*, *V. corcovadensis*, *V. flammea*, *V. gigantea*, *V. incurvata*, *V. platynema*, *V. psittacina* e *V. rodigasiana*);
- Verificar se existe variação, ou não, no padrão estrutural das sementes das espécies em questão;
- Investigar se as características anatômicas das sementes analisadas constituem caracteres úteis para a distinção dos gêneros;
- Fornecer caracteres anatômicos que possam ser utilizados por outros pesquisadores em análises filogenéticas;
- Fornecer dados morfológicos e anatômicos que permitirão a compreensão do comportamento germinativo das sementes das espécies estudadas.

O presente trabalho faz parte de um projeto mais abrangente intitulado “Sistemática e Conservação de Bromeliaceae”, Edital Fapergs/CNPq n.008/2009 Programa de Apoio a Núcleos de Excelência – PRONEX, que visa unir esforços na adição de caracteres reprodutivos distintivos, que melhorem a circunscrição de gêneros, bem como, fornecer dados morfológicos e moleculares, para estabelecer relações filogenéticas mais robustas, e ainda contribuir com o maior número de informações possíveis para a conservação das espécies.

Até o momento já foram publicados dados sobre a embriologia de espécies ameaçadas (Mendes *et al.*, 2010), a dispersão de sementes (Paggi *et al.*, 2010) e a ontogenia do fruto de representantes das três subfamílias de Bromeliaceae ocorrentes no Brasil (Fagundes & Mariath, 2010).

REFERÊNCIAS

- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 105-121. 2009.
- ARRUDA, R. C. O.; COSTA, A. F. Foliar anatomy of five *Vriesea* sect. *Xiphion* (Bromeliaceae) species. **Selbyana**, v. 4, 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**, v. 92, n. 2, p. 337-351. 2005.
- BAKER, J. G. **Handbook of the Bromeliaceae**. London: Georg Bell & Sons, 1889.
- BATISTA, J. M. Relevância de bromélias como reservatório de larvas de *Aedes aegypti* no Município de Paraty - RJ. **Revista Controle Biológico**, v. 2, p. 13-16. 2010.
- BEER, J. G. **Die familie der Bromeliaceen**. Wien: Tendler & Comp., 1857.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- BERNARDELLO, L. M.; GALETTO, L.; JULIANI, H. R. Floral nectar, nectary structure and pollinators in some Argentinian Bromeliaceae. **Annals of Botany**, v. 67, p. 401-411. 1991.
- BILLINGS, F. H. A study of *Tillandsia usneoides*. **Botanical Gazette**, v. 38, p. 99-121. 1904.
- BROWN, G.K.; TERRY, R.G.; Petal Appendages in Bromeliaceae. **American Journal of Botany**, v. 79, p. 1051-1071. 1992.
- CECCHI FIORDI, A.; PALANDRI M. R.; TANI, G.; DI FALCO, P. Cytological aspects of the hypocotyl correlated to the behavior of the embryo radicle of *Tillandsia* atmospheric species. **Caryologia**, v. 49, n. 2, p. 113-124. 1996.

- CECCHI FIORDI, A.; PALANDRI M. R.; TURICCHIA, S.; TANI, G.; DI FALCO, P. Characterization of the seed reserves in *Tillandsia* (Bromeliaceae) and ultrastructural aspects of their use at germination. **Caryologia**, v. 54, n.1, p. 1-16. 2001.
- CRAYN, D. M.; WINTER, K.; SMITH, J. A. C. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. **PNAS**, v. 101, n. 10, p. 3703-3708. 2004.
- CRONQUIST, A. **The Evolution and Classification of Flowering Plants**. 2nd ed. New York: The New York Botanical Garden, 1988.
- ESPEJO-SERNA, A. *Viridantha*, un género nuevo de Bromeliaceae (Tillandsioideae) endémico de México. **Acta Botanica Mexicana**, v. 60, p. 25-35. 2002.
- FAGUNDES, N. F.; MARIATH, J. E. A. Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 765-779. 2010.
- FIGUEIREDO, A.M.G.; NOGUEIRA, C.; MARKERT, B.; HEIDENREICH, H.; FRÄNZLE, S.; LIEPELT, G.; SAIKI, M.; DOMINGOS, M.; MILIAN, F.; HERPIN, U. The use of *Tillandsia usneoides* L. as bioindicator of air pollution in São Paulo, Brazil. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 259, p. 59-63. 2004.
- GILMARTIN, A. J.; BROWN, G. K. Bromeliales, Related Monocots, and Resolution of Relationships among Bromeliaceae Subfamilies. **Systematic Botany**, v. 12, n. 4, p. 493-500. 1987.
- GIVNISH, T. J.; MILLAM, K. C.; EVANS, T. M.; HALL, J. C.; PIRES, J. C.; BERRY, P. E.; SYSTMA, K. J. Ancient vicariance or long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based in *ndhF* sequence data. **International Journal of Plant Science**, v. 165, p. 35-54. 2004.
- GIVNISH, T. J.; MILLAM, K. C.; BERRY, P. E.; SYSTMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. **Aliso**, v. 23, p. 3-26. 2007.
- GOODE, L. K.; ALLEN, M. F. Seed germination conditions and implications for establishment of an epiphyte, *Aechmea bracteata* (Bromeliaceae). **Plant Ecology**, v. 204, p. 179-188. 2009.

GRACIANO, C.; FERNÁNDEZ, L.V.; CALDIZ, D. O. *Tillandsia recurvata* L. as a bioindicator of sulfur atmospheric pollution. **Ecologia Austral**, v. 13, p. 3-14. 2003.

GROSS, E. Bromelienstudien IV. Zur Morphologie der Bromeliaceen-Samen unter Berücksichtigung Systematisch-taxonomischer Aspekte. **Tropische und Subtropische Pflanzenwelt**, n. 64, p. 415–625. 1988.

HAUSSEN, M. A. A. B. **Biogeografia da Família Bromeliaceae Juss. no Rio Grande do Sul**. São Leopoldo: Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, 1992. Dissertação de Mestrado.

HARMS, H. Bromeliaceae. *In*: ENGLER, A.; PRANTL, K. **Die Naturlichen Pflanzenfamilie**. Leipzig: Engelmann, 1930. p. 65-159.

HORRES, R.; ZIZKA, G.; KAHL, G.; WEISING, K. Molecular Phylogenetics of Bromeliaceae: Evidence from *trnL* (UAA) Intron Sequences of the Chloroplast Genome. **Plant Biology**, v. 2, n. 3, p. 306-315. 2000.

JUSSIEU, A. **Genera Plantarum, Secundum Ordines Naturales Disposita Juxta Methodum in Horto Regio Parisiensi Exaratam**. Paris: Herrissant, 1789.

LAKSHMANAN, K. K. **Embryological studies in the Bromeliaceae**. I. *Lindmania penduliflora* (C. H. Wright) stapf. Proceedings of the Indian Academy of Science, v. 65, n.2, p. 49-55. 1967.

LUTHER, H. E. **An alphabetical list of Bromeliad binomials**. 11th ed. Sarasota: Bromeliad Society International, 2008.

MANETTI, L. M.; DELAPORTE, R. H.; LAVERDE, A. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1885-1897. 2009.

MANTOVANI, A.; IGLESIAS, R. The effect of water stress on seed germination of three terrestrial bromeliads from Restinga. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 1, p. 201-205. 2010.

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**, v. 59, n. 1, p. 209-258. 2008.

MENDES, S. P.; COSTA, C. G.; De TONI, K. L. G. Embryo development of *Dyckia pseudococcinea* (Pitcairnioideae-Bromeliaceae), an endangered Brazilian species. **Australian Journal of Botany**, v. 58, n. 6, p. 485–492. 2010.

MEZ, C. Bromeliaceae. In: MARTIUS, C. F. P.; EICHLER, A.G. (eds.). **Flora Brasiliensis**. Wien: Leipzig, v. 3, 1894. p. 173-643.

MEZ, C. Bromeliaceae. In: ENGLER, A.; PRANTL, K. **Das Pflanzenreich**. Berlin: Engelmann, 1935. p. 1-667.

MONDRAGON, D.; CALVO-IRABIEN, M. Seed dispersal and germination of the epiphyte *Tillandsia brachycaulos* (Bromeliaceae) in a tropical dry forest, Mexico. **The Southwestern Naturalist**, v. 5, n. 4, p. 462–470. 2006.

MORRA, L.; DOTTORI, N.; COSA, M.T. Ontogenia y anatomía de semilla y fruto en *Tillandsia tricholepis* (Bromeliaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 37 n.3-4, p. 193-201. 2002.

OLIVEIRA, R. R. Importância das bromélias epífitas na ciclagem de nutrientes da Floresta Atlântica. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 4, p. 793-799. 2004.

PAGGI, G. M.; SAMPAIO, J. A. T. SAMPAIO; BRUXEL, M.; ZANELLA, C. M.; GÖETZE, M. BÜTTOW, M. V; PALMA-SILVA, C.; BERED, F. Seed dispersal and population structure in *Vriesea gigantea*, a bromeliad from the Brazilian Atlantic Rainforest **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 164, p. 317–325. 2010

PALACÍ, C. A.; BROWN, G. K.; TUTHILL, D. E. The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). **Systematic Botany**, v. 29, n. 3, p. 518-527. 2004.

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

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

RANKER, T. A.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; GILMARTIN, A. J. Subfamilial Phylogenetic Relationships of the Bromeliaceae: Evidence from Chloroplast DNA Restriction

Site Variation. **Systematic Botany**, v. 15, n. 3, p. 425-434. 1990.

RAO, A. N. & WEE, Y. C. Embryology of the Pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. **New Phytologist**, v. 83, n. 2, p. 485-497. 1979.

REITZ, R. Bromeliáceas e a Malária - Bromélia endêmica. *In: Flora Ilustrada Catarinense*. REITZ, R. (ed.). Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, fasc. BROM, p.1-559. 1983.

SAJO, M. G.; PRYCHID, C. J.; RUDALL, P. J. Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. **Kew Bulletin**, v. 59, p. 261-267, 2004b.

SASS, C.; SPECHT, C. D. Phylogenetic estimation of the core Bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 55, p. 559-571. 2010.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *In: Flora Neotropica*. New York: Hafner Press, 1974. p. 1-662.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *In: Flora Neotropica*. New York: Hafner Press, 1977. p. 663- 1492.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. Bromelioideae (Bromeliaceae). *In: Flora Neotropica*. New York: New York Botanical Garden, 1979. p. 1493–2142.

SMITH, L.B.; TILL, W. Bromeliaceae. *In: K. Kubitzki (ed.). The Families and Genera of Vascular Plants IV*. New York: Springer, 1998. p. 74-99.

STREHL, V. T. Forma, distribuição e flexibilidade dos tricomas foliares usados na filogenia de bromeliáceas. **Iheringia**, v. 31, p. 105-119. 1983.

STREHL, T.; BEHEREGARAY, R. C. P. Morfologia de sementes do gênero *Dyckia*, subfamília Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Pesquisas Botânicas**, v. 57, p. 103-120. 2006.

TOLEDO-ACEVES; WOLF, L. A. Germination and Establishment of *Tillandsia eizii* (Bromeliaceae) in the Canopy of an Oak Forest in Chiapas, Mexico. **Biotrópica**, v. 40, n. 2, p. 246-250. 2008.

TOMLINSON, P. B. Commelinales – Zingiberales. *In*: METCALFE, C. R. (ed.). **Anatomy of the Monocotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1969.

VARADARAJAN, G. S.; GILMARTIN, A. J. Seed morphology of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) and its systematic implications. **American Journal of Botany**, v. 75, n. 6, p. 808-818. 1988.

VIANNA, N. A; GONÇALVES, D; BRANDÃO, F; BARROS, R. P; AMADO FILHO, G. M. A; MEIRE, R. O; TORRES, J. P. M; MALM, O; D'OLIVEIRA Jr., A; ANDRADE, L. R. Assessment of heavy metals in the particulate matter of two Brazilian metropolitan areas by using *Tillandsia usneoides* as atmospheric biomonitor. **Environmental Science & Pollution Research**, v. 17, p. 1-12. 2010.

WAECHTER, J. L. Distribuição de bromeliáceas epifíticas em florestas do Rio Grande do Sul. *In*: BARBOSA, L. M.; SANTOS JÚNIOR, N. A. (Orgs.). **A Botânica no Brasil: pesquisa, ensino e políticas públicas ambientais**. São Paulo, 2007. p. 450-454.

WITTMACK, L. Bromeliaceae. *In*: ENGLER, A.; PRANTL, K. **Die Naturlichen Pflanzenfamilie**. Leipzig: Verlag Engelmann, 1888. p. 32-59.

CAPÍTULO II

**Morfoanatomia da semente e sua relevância na sistemática de Tillandsioideae
(Bromeliaceae)**

Raquel I. Magalhães, Jorge E. A. Mariath

**Morfoanatomia da semente e sua relevância na sistemática de Tillandsioideae
(Bromeliaceae)¹**

Raquel I. Magalhães², Jorge E. A. Mariath³

²Laboratório de Anatomia Vegetal, Instituto de Biociências

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CEP: 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil

³ Pesquisador CNPq. e-mail: jorge.mariath@ufrgs.br

¹ Este artigo é parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora, no Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

Morfoanatomia da semente e sua relevância na sistemática de Tillandsioideae (Bromeliaceae)

Resumo

A morfoanatomia das sementes maduras de 14 espécies representantes dos gêneros *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. foi investigada em microscopia fotônica e eletrônica de varredura, a fim de estabelecer padrões estruturais dos envoltórios, do endosperma e do embrião, que permitam a distinção dos gêneros e contribuam para a sistemática de Tillandsioideae. Todas as espécies estudadas possuem apêndices plumosos em posição basal, com arranjo estrutural semelhante a um “para-quedas”. Em *Vriesea*, o embrião ocupa cerca de 1/3 do interior da semente e o restante é preenchido pelo endosperma. Em *Tillandsia*, o espaço que o embrião ocupa no interior da semente, varia de acordo com a espécie analisada. Os tipos de substâncias de reserva armazenadas no endosperma e no embrião diferem consideravelmente, tanto entre os gêneros *Vriesea* e *Tillandsia*, quanto entre as espécies de *Tillandsia*. No embrião das tillandsias, na porção mediana do eixo hipocótilo-radícula, existe uma zona de constrição, separando a porção radicular do restante do embrião. O mesmo não foi observado nas espécies de *Vriesea*. Nossos resultados indicam que poucas características morfoanatômicas dos envoltórios das sementes maduras são passíveis de utilização em análises filogenéticas, sem considerarmos o estudo ontogenético dessas estruturas. Por outro lado, as características do embrião e do endosperma são muito informativas e úteis para a separação dos gêneros *Vriesea* e *Tillandsia*, e na distinção de grupos de espécies dentro do gênero *Tillandsia*.

Palavras-chave: Embrião Monocotiledôneas Poales *Tillandsia* *Vriesea*

Introdução

Tillandsioideae possui características singulares, capazes de distingui-la das demais subfamílias tradicionais de Bromeliaceae. Dentre essas características destacam-se as folhas com margens inteiras, a presença de frutos do tipo cápsula septicida e as sementes plumosas adaptadas a dispersão anemocórica (Szidat 1922; Smith e Downs 1977). Na subdivisão de Bromeliaceae proposta por Smith e Downs (1974, 1977, 1979) as sementes, ainda que pouco

exploradas, possuíam grande valor na delimitação de Bromelioideae, Pitcairnioideae e Tillandsioideae. No entanto, com o rearranjo de Bromeliaceae proposto por Givnish et al. (2007), que reorganizou a família em oito subfamílias (Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae), os caracteres morfológicos até então empregados na circunscrição de táxons, não são mais capazes de expressar a verdadeira relação entre eles. Esse rearranjo de Bromeliaceae gerou a necessidade de novos estudos, que contribuam com características mais detalhadas e aprimorem as circunscrições em níveis infrafamiliar e infragenérico (Palací et al. 2004; Barfuss et al. 2005; Givnish et al. 2007).

A complexidade de Tillandsioideae, cujas delimitações dos gêneros são pouco claras e muitas vezes contestáveis, é observada em toda a sua história taxonômica. Frequentemente são sugeridas novas propostas de elevar subgêneros a gêneros, criar gêneros a partir da segregação de um gênero maior ou mudar espécies de um gênero para outro (Grant 1993; Espejo-Serna 2002; Barfuss et al. 2005). Barfuss et al. (2005) discutiram as possíveis relações filogenéticas dentro de Tillandsioideae e verificaram que algumas espécies dos gêneros *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L., classificadas segundo Smith e Downs (1977), parecem não estar corretamente posicionadas.

Vriesea possui aproximadamente 260 espécies, das quais 145 são endêmicas da Mata Atlântica brasileira (Smith e Downs 1977; Luther 2008; Martinelli et al. 2008). Segundo Smith e Till (1998) a cor das brácteas, a forma das pétalas e a posição dos estames, possibilitam a subdivisão do gênero em duas seções (*Vriesea* e *Xiphion*).

Tillandsia compreende cerca de 600 espécies distribuídas da Argentina aos Estados Unidos (Smith e Downs 1977; Luther 2008). De acordo com a classificação de Smith e Till (1998) o gênero é subdividido em seis subgêneros (*Allardtia*, *Anoplophytum*, *Diaphoranthema*, *Phytarrhiza*, *Pseudalcantarea* e *Tillandsia*). Tal classificação é fundamentada em características das pétalas, dos estames e dos pistilos.

Atualmente, os gêneros *Vriesea* e *Tillandsia* são distintos apenas pela presença ou ausência de apêndices petalíneos (Smith e Downs 1977; Brown e Terry 1992). No entanto, acredita-se que tais estruturas tenham surgido independentemente e se forem utilizadas isoladamente, não constituem um bom caráter para a separação dos gêneros, pois tornam os limites entre eles confusos e geram posicionamentos duvidosos entre as espécies (Brown e Terry 1992; Benzing 2000).

As sementes fornecem excelentes caracteres diagnósticos e por sofrerem mudanças evolutivas lentas, estão menos sujeitas as alterações geradas por variações ambientais (Gross

1988). Além disso, as características do embrião são geralmente constantes dentro de um gênero e funcionam como importantes indicadores de relações supraespecíficas (Von Teichman e Van Wyk 1991).

Se considerarmos o grande número de espécies pertencentes a subfamília, os trabalhos envolvendo a descrição da anatomia e da morfologia das sementes são escassos em Tillandsioideae,. Desde o clássico estudo de Billings (1904) acerca do desenvolvimento de *T. usneoides* (L.) L. e Gross (1988) que analisou a micromorfologia das sementes de diversos gêneros da família, apenas Cecchi-Fiordi et al. (1996; 2001) e Morra et al. (2002) descreveram características morfológicas e anatômicas das sementes de *Tillandsia*. Porém, as descrições apresentadas compreendem um número muito pequeno de espécies, não visam a adição de caracteres taxonômicos distintivos e não fazem comparações com outros gêneros. No que diz respeito às sementes de *Vriesea*, o cenário é ainda pior. Após Gross (1988) não foi realizado nenhum estudo envolvendo a morfoanatomia dessas estruturas. Palací et al. (2004) analisaram o desenvolvimento do tegumento das sementes de espécies de *Catopsis* Griseb. e compararam com o desenvolvimento de *T. complanata* Benth. Além de contribuírem com algumas informações sobre o tegumento dessas sementes, demonstraram que as características observadas possuíam grande valor para a sistemática de Tillandsioideae, principalmente a nível genérico.

Na tentativa de identificar caracteres que contribuam para melhorar a circunscrição dos gêneros *Vriesea* e *Tillandsia* e de fornecer dados que fortaleçam os resultados de filogenias baseadas em dados moleculares, foi investigada a morfoanatomia da semente madura de 14 espécies representantes de ambos os gêneros, procurando delimitar padrões estruturais para cada um deles.

Material e métodos

Coleta do material e caracterização biométrica

As sementes maduras de *Vriesea* (*V. carinata*, *V. corcovadensis*, *V. flammea*, *V. gigantea*, *V. incurvata*, *V. platynema*, *V. psittacina* e *V. rodigasiana*) e *Tillandsia* (*T. aeranthos*, *T. geminiflora*, *T. recurvata*, *T. stricta*, *T. tenuifolia* e *T. usneoides*) foram coletadas na Coleção de Bromeliaceae do Jardim Botânico de Porto Alegre e em municípios do Rio Grande do Sul, BR (Tab. 1). A fim de garantir o uso de sementes maduras de ambos os gêneros e tornar os resultados das comparações mais seguros, foi estabelecido como padrão

de coleta a remoção das sementes apenas dos frutos recém abertos e, um número amostral mínimo de três indivíduos para cada espécie.

Para obtenção dos valores referentes ao comprimento das sementes e ao tamanho relativo do embrião, foram medidas 10 sementes de cada espécie, com auxílio de estereomicroscópio Wild M7A. A porção da semente ocupada pelo embrião é a média dos valores obtidos a partir da divisão do comprimento do embrião, pelo comprimento das sementes (sem os apêndices plumosos e endóstoma).

Preparação do material para análise em microscopia fotônica

O material botânico foi fixado em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell e Trump 1976). Depois de fixado, foi lavado em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 (Gabriel 1982), seguido por desidratação em série etílica crescente (10-100%) e inclusão em historesina hidroxietilmetacrilato (Gerrits e Smid 1983). Após o processamento e inclusão do material, seções de 6 µm de espessura foram confeccionadas em micrótomo de rotação Microm HM 340 E, depositadas sobre lâminas histológicas e secadas em placa aquecedora a 50° C.

Para visualização das estruturas em microscopia fotônica, o material foi corado com Azul de Toluidina O 0,05% pH 4,4 (O'Brien e McCully 1981). Para verificar a natureza das substâncias de reserva, foram utilizados Coomassie Blue, para a detecção proteínas totais (Southworth 1973), solução de Lugol, para a detecção de amido (Johansen 1940) e Sudan Black B, para a detecção de lipídios (Jensen 1962). A análise e o registro das imagens foram realizados em microscópio Leica DMR HC, com câmera digital Leica DFC 500 acoplada e programa de captura de imagens LAS - Leica Application Suite.

Preparação do material para análise em microscopia eletrônica de varredura

Para observação dos envoltórios das sementes em microscopia eletrônica de varredura, o material foi lavado em tampão fosfato de sódio, desidratado em série etílica ascendente (0-100%) e transferido para acetona 100%. Após essas etapas, as sementes foram submetidas a secagem através do método do ponto crítico (Gersterberger e Leins 1978), no equipamento BAL-TEC, CPD 030. Então, as sementes foram aderidas a suportes de alumínio com fita carbono dupla-face e metalizadas com ouro, no aparelho BAL-TEC SCD 050. A análise foi realizada em microscópio eletrônico de varredura JEOL 6060, sob 10 kV.

A terminologia adotada para a descrição dos envoltórios das sementes segue a

definição de Corner (1976). Assim, o tegumento externo é denominado de testa e o tegumento interno é denominado de tégmen.

Resultados

Forma, tamanho e envoltórios das sementes

As sementes são caracterizadas pela presença de apêndices plumosos, de coloração amarelo-translúcido em *Vriesea* e branco-translucido em *Tillandsia*. Ambos em posição basal em relação ao fruto. Os apêndices plumosos de ambos os gêneros, são originados na extremidade micropilar dos rudimentos seminiais. Por serem rudimentos seminiais anátropos, o pólo micropilar posiciona-se ao lado do funículo e, voltado para a placenta (na porção proximal do ovário). Assim, os apêndices plumosos das sementes maduras localizam-se na base dos frutos (Fig. 1 a-b), sendo considerados apêndices plumosos basais.

Sem os apêndices plumosos, as sementes dos membros de *Vriesea* medem de 3,4 a 4,8 mm de comprimento (em *V. carinata* e *V. gigantea*, respectivamente) e tem formato filiforme. Nos membros de *Tillandsia* variam de 2,5 a 4,7 mm de comprimento (em *T. aeranthos* e *T. geminiflora*, respectivamente), com formatos que variam de fusiformes a estreitamente fusiformes (Fig. 1 c; Tab. 2).

Em ambos os gêneros, os envoltórios das sementes maduras são delgados e compostos por cinco camadas celulares (Fig. 1 d). A testa é constituída por três camadas de células longitudinalmente alongadas e com paredes lignificadas, derivadas do tegumento externo dos rudimentos seminiais, acrescida de tecido funicular (Fig. 1 e). O tégmen é bisseriado, sendo composto por exo e endotégmen, derivados do tegumento interno do rudimento seminal. O exotégmen é formado por células irregulares em tamanho e forma, com paredes espessadas e sem conteúdo citoplasmático na maturidade. O endotégmen é formado por células de paredes espessadas e com conteúdo fenólico em seu interior, que conferem coloração amarronzada a essa camada.

Nas vrieseas, a região do endóstoma é composta por células de tamanhos e formas irregulares, diferindo do restante do tégmen (Fig. 1 f-g). Em *T. geminiflora*, *T. recurvata* e *T. usneoides*, o tégmen alonga-se em direção ao exóstoma, dando um aspecto alongado às sementes dessas espécies (Fig. 1 h). A função mecânica de proteção dos envoltórios é transferida para o exotégmen, pois as células da testa são responsáveis pela formação dos apêndices plumosos.

O apêndice plumoso basal (micropilar) é formado pela exo e mesotesta, que se separam das demais camadas que compõem o envoltório da semente, e pela endotesta, que permanece em contato com o exotégmen, ligando o apêndice plumoso a semente.

Os apêndices plumosos das espécies analisadas apresentam dois tipos de arranjos estruturais (Fig. 2 a-b):

Tipo I - Ocorre em todas as espécies de *Vriesea*. É constituído pela exo e mesotesta, que se separam na região calazal e permanecem unidas umas as outras na região micropilar, próximo ao exóstoma, formando uma estrutura semelhante a um “para-quedas”. As células da endotesta formam uma haste, que mantém o “para-quedas” ligado à semente.

Tipo II - Ocorre em todas as espécies de *Tillandsia*. Exo e mesotesta se separam na região calazal, formando uma estrutura semelhante a um “para-quedas” próximo ao exóstoma. A endotesta se separa na região micropilar (logo abaixo do exóstoma) e forma um segundo “para-quedas”, próximo ao endóstoma. A haste que mantém o primeiro “para-quedas” ligado a semente, é o funículo. O segundo “para-quedas” está ligado à semente pelas células da endotesta que permanecem aderidas ao exotégmen.

Em *Vriesea*, as células que compõem a endotesta apresentam espessamentos secundários irregulares (ondulações) em suas paredes anticlinais (Fig. 2 c) e as conexões entre as células podem ser retas, ou levemente curvas. Nas sementes de *Tillandsia* não foram observados espessamentos irregulares e as conexões celulares são frequentemente inclinadas (Fig. 2 d). Em ambos os gêneros, as conexões entre as células que formam o “para-quedas” do apêndice plumoso tem formato bifurcado (Fig. 2 e).

Na extremidade apical (calazal) das sementes de *Vriesea* (Fig. 2 f) observa-se um prolongamento da testa, constituído por células longitudinalmente alongadas. Após a formação do apêndice plumoso basal algumas células permanecem aderidas a semente e, formam uma estrutura semelhante a um capuz na base do apêndice apical das espécies *V. corcovadensis*, *V. flammea*, *V. gigantea* e *V. platynema*. Nas demais espécies de *Vriesea*, os apêndices apicais são menores que os das espécies acima citadas. Em *Tillandsia*, o apêndice apical é mais curto que em *Vriesea* e não há formação de capuz (Fig. 2 g).

Endosperma

As sementes analisadas são classificadas como albuminosas, com exceção de *T. recurvata*, e o endosperma situa-se principalmente na região calazal das sementes. A quantidade desse tecido se manteve praticamente constante nas espécies de *Vriesea*,

representando cerca de 70% do volume da semente. Nas espécies de *Tillandsia*, pode ocupar até 35% do interior das sementes e foi completamente consumido em *T. recurvata* (Tab. 2).

A região central do endosperma é composta por células grandes, irregulares em forma e tamanho, com paredes delgadas e levemente onduladas, e sem núcleos evidentes. A região periférica desse tecido é constituída por uma camada celular, composta por células que variam de retangulares a arredondadas, com paredes espessadas e núcleos evidentes. Na porção do endosperma adjacente ao cotilédone do embrião, observam-se camadas de células comprimidas, cujo conteúdo celular foi consumido pelo embrião em desenvolvimento (Fig. 3 a-b).

Na região micropilar das sementes de *Vriesea* o endosperma já foi quase todo consumido, restando apenas a camada mais periférica (Fig. 1 g). Em *Tillandsia* o endosperma dessa região foi completamente consumido, sendo observados apenas resquícios desse tecido.

Os tipos de substâncias de reserva presentes no endosperma variam de acordo com as espécies analisadas (Fig. 3 c-e, f-h). As sementes de todas as espécies de *Vriesea* e de *T. aeranthos*, *T. geminiflora* e *T. tenuifolia* mostraram reação positiva à solução de Lugol, demonstrando a presença de amido nessas células. Em *T. stricta* e *T. usneoides* não ocorreu reação. A quantidade de grãos de amido presente no endosperma das espécies de *Vriesea*, bem como os seus tamanhos, são maiores do que aqueles encontrados em *Tillandsia*.

Na camada periférica do endosperma de ambos os gêneros não ocorreu reação a solução de Lugol, demonstrando a ausência de amido no interior das células. Ocorreu reação positiva ao Coomassie Blue, evidenciando a presença de proteínas (em corpos protéicos). Porém, na região em contato com o embrião, as células dessa camada tem conteúdo citoplasmático diferente do observado nas demais células.

Embrião

Todas as espécies analisadas possuem embriões bem desenvolvidos, sendo possível distinguir uma porção caulinar, formada por um cotilédone e pelo hipocótilo, e uma porção radicular. Os embriões de *Vriesea* ocupam cerca de 30% do interior das sementes, enquanto que nas espécies de *Tillandsia* ocupam de 65 a 100% (Fig. 4 a-c).

Em *Vriesea* a epiderme cotiledonar é uniestratificada, composta por células pavimentosas, com paredes delgadas e, geralmente, alongadas em seção longitudinal. O mesofilo cotiledonar é composto por células poligonais, de paredes delgadas e de maiores dimensões que as demais células que compõem o embrião.

Além do cotilédone, foram observadas expansões laterais envolvendo o meristema apical caulinar dos embriões. O meristema apical caulinar é formado por células isodiamétricas, com paredes delgadas, núcleos evidentes e citoplasma denso (Fig. 5 a-b).

A porção radicular (Fig. 5 c) desses embriões é constituída por células isodiamétricas, com paredes delgadas e com conteúdo protéico e lipídico. O meristema provascular é constituído por células alongadas longitudinalmente, com paredes delgadas, citoplasma denso e núcleo evidente e, é observado tanto na região caulinar (hipocótilo e cotilédone) quanto na região radicular dos embriões.

As células que compõe a epiderme e o mesofilo cotiledonar dos embriões de *Tillandsia* são semelhantes às descritas em *Vriesea* e expansões laterais envolvendo o meristema apical caulinar também foram observadas. O cotilédone do embrião pode apresentar variação em sua forma e na quantidade de substâncias de reserva. Nas espécies *T. recurvata* e *T. usneoides* o ápice cotiledonar é arredondado, enquanto que nas demais espécies analisadas o ápice é truncado.

O meristema apical caulinar é formado por células isodiamétricas, com paredes delgadas, núcleos evidentes e citoplasma denso. Em alguns casos, como em *T. recurvata*, *T. usneoides* e *T. stricta*, observa-se um primórdio foliar em desenvolvimento (Fig. 5 d). No embrião de *T. geminiflora*, pode-se distinguir um primórdio foliar bem desenvolvido, com epiderme composta por células isodiamétricas, de paredes delgadas e com mesofilo composto por células poligonais e maiores que as células da epiderme (Fig. 5 e-f).

A porção radicular dos embriões de *Tillandsia* difere consideravelmente de *Vriesea*. A porção mediana do eixo hipocótilo-radícula é constituída por células que variam de isodiamétricas a retangulares, em seção longitudinal, que sofrem deposição de lipídios nas paredes e culminam na separação da radícula do restante do embrião. As modificações ocorrem em direção centrípeta. Assim, as células da periferia possuem paredes mais espessas, que reagem fortemente ao Sudan Black (Fig. 5 g). As células centrais, por sua vez, apresentam diferentes níveis de deposição de lipídios nas paredes, grande quantidade de substâncias solúveis no citoplasma e, em alguns casos, observa-se células com núcleos volumosos. Também se observa que toda a região reage ao corante Azul Toluidina, evidenciando a presença de compostos fenólicos (Fig. 5 h). Abaixo dessa região, a porção radicular dos embriões é formada por células grandes, poligonais e com paredes espessadas. Assim, parece haver uma zona que separa a porção caulinar da radicular. Nessa região são observados feixes vasculares compostos por traqueídes com espessamentos que variam de anelares a reticulados (Fig. 5 i) e, com mobilização de substâncias em direção a porção

caulinar do embrião (Fig. 5 h).

Quando observadas em seção longitudinal, em *T. aeranthos*, *T. stricta* e *T. tenuifolia*, a região mediana do eixo hipocótilo-radícula do embrião é levemente deslocada e, composta por seis a dez camadas de células, com formato, geralmente, retangular na periferia e, isodiamétricas no centro (Fig. 6 a-c). Em *T. geminiflora*, *T. recurvata* e *T. usneoides* a região mediana do eixo hipocótilo-radícula é reta e, composta por quatro a nove camadas de células isodiamétricas (Fig. 6 d-f).

De todas as espécies analisadas, apenas o embrião de *T. aeranthos* mostrou reação positiva à solução de Lugol, demonstrando a presença de amido. Quanto às proteínas, essas estão presentes em todas as espécies, ocorrendo como massas protéicas associadas a globóides e cristalóides, que podem estar circundadas por corpos lipídicos (Fig. 7 a-d).

Discussão

Forma, tamanho e envoltórios das sementes

As sementes de Tillandsioideae são oriundas de rudimentos seminais anátropos e bitegmentados (Johri 1992). Na maturidade são caracterizadas pela presença de apêndices plumosos em posição basal ou apical (Smith e Downs 1977; Gross 1988; Palací 2004).

De acordo com os nossos resultados, as diferenças mais marcantes das sementes das espécies analisadas estão na sua forma (*Vriesea* - filiforme e *Tillandsia* - fusiforme e estreitamente fusiforme), no arranjo estrutural dos apêndices plumosos basais (Tipo I - em *Vriesea* e Tipo II - em *Tillandsia*) e na coloração desses apêndices plumosos (*Vriesea* - amarelo-translúcido e *Tillandsia* branco-translúcido). Além disso, os apêndices apicais são longos em *Vriesea* e curtos em *Tillandsia*. Diversos autores (Billings 1904; Gross 1988; Morra et al. 2002) afirmaram que os apêndices plumosos basais de *Tillandsia* e *Vriesea* são formados pela separação das células da testa da semente e auxiliam na dispersão anemocórica. Segundo Smith e Downs (1977) os apêndices apicais de tillandsias e vrieseas, normalmente, não são tão desenvolvidos quanto os basais, mas aumentam as chances das sementes flutuarem.

Em ambos os gêneros as extremidades das células que formam os apêndices plumosos são bifurcadas e em *Tillandsia* o tégmen das sementes de *T. geminiflora*, *T. recurvata* e *T. usneoides* é alongado, contribuindo para o aspecto estreitamente fusiforme das sementes. Acredita-se que tanto as bifurcações, quanto o alongamento do tégmen contribuam para a

melhor fixação das sementes no substrato (Gross 1988; Morra et al. 2002; Palací et al. 2004).

Em todas as espécies analisadas, o endotégmen é constituído por células que contém compostos fenólicos em seu interior. Nakamura et al. (2009) sugeriram que a presença desses compostos no endotégmen da semente madura, por já terem sido observados em diversas famílias da ordem Poales, podem constituir mais uma característica distintiva para a ordem. Se o valor dessa característica for confirmado em estudos futuros, que incluam um maior número de táxons, a presença de substâncias fenólicas nas sementes analisadas pode ser mais um indicativo do correto posicionamento de Bromeliaceae em Poales.

O desenvolvimento do tegumento da semente proporciona diversos caracteres para a distinção de espécies e o seu conhecimento é de extrema importância na interpretação correta dos envoltórios da semente madura. Os apêndices plumosos em Tillandsioideae tem sido considerados caracteres homoplásicos (Benzing 2000; Palací et al 2004) e na última fase de maturação das sementes, pode haver compressão dos tegumentos, devido a perda de água, dificultando a interpretação dessas estruturas (Johri 1984). Dessa forma, para compreender o caminho evolutivo percorrido pelas espécies analisadas, considerando apenas o uso dos envoltórios das sementes, seria necessário acompanhar o desenvolvimento dos tegumentos evitando inferências errôneas sobre os gêneros.

Endosperma e embrião

Considerando a classificação de Cocucci (2005) a fórmula das sementes das espécies de *Tillandsia* e *Vriesea* é 325. Tal classificação abrange sementes contendo embriões uninodais (3), com acúmulo de substâncias de reserva no endosperma (2) e no embrião (5). As exceções ocorrem apenas em *T. recurvata*, cuja fórmula é 35, pois possui embrião uninodal (3) e, as substâncias de reserva são armazenadas apenas no embrião (5), e em *T. geminiflora*, cuja fórmula é 425, devido à presença de embrião multinodal (4), caracterizado pelo desenvolvimento de um primórdio foliar, com acúmulo de substâncias de reserva no endosperma (2) e no embrião (5).

A periferia do endosperma de muitas espécies de monocotiledôneas, e de algumas dicotiledôneas, forma uma camada semelhante a uma epiderme, denominada de camada de aleurona (Larkins e Vasil 1997; Kumamaru 2007). De acordo com os nossos resultados, as células da periferia do endosperma compõem uma camada de aleurona. Em cereais, essa camada está envolvida no acúmulo de ácido fítico, capaz de quelar diversos minerais, constituindo um importante local para o armazenamento de fosfato, magnésio, potássio e

cálcio. As proteínas presentes nessa camada estão armazenadas em organelas especializadas, os corpos protéicos (Larkins e Vasil 1997; Becraft 2007). Durante o estágio inicial da germinação, a camada de aleurona assume uma função digestiva, secretando enzimas para a quebra do amido das células da região central do endosperma. Essas atividades são controladas por giberelinas, produzidas pelo embrião em crescimento, induzindo a expressão de genes que levam a formação e a secreção de amilase, e pelo ácido abscísico, que atua como antagonista nesse processo (Becraft 2007).

Segundo Becraft (2007) a camada de aleurona sofre morte celular programada após a liberação das enzimas hidrolíticas. Isso explicaria a ausência da camada de aleurona na região adjacente aos embriões de *Tillandsia* e a sua presença ao redor do endosperma central. Nas espécies de *Vriesea*, observa-se a presença de camada de aleurona adjacente ao embrião. No entanto, as células que compõem essa região apresentam conteúdo citoplasmático diferente do observado nas células em contato com o endosperma amiláceo. Essa diferença, provavelmente, ocorre porque as enzimas hidrolíticas já foram liberadas e a camada de aleurona já cumpriu sua função e entrará em processo de morte celular programada.

O volume que o embrião ocupa no interior da semente é uma das características mais marcantes para a distinção dos gêneros analisados. Os embriões das espécies de *Vriesea* são pequenos, ocupando de 27 a 33% do interior das sementes. Em *Tillandsia* os embriões são grandes e ocupam de 65 a 100%. No entanto, trabalhos clássicos fazem referências a embriões que ocupam de $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{3}$ do interior da semente (Billings 1904; Johri 1992; Benzing 2000). A variação observada no tamanho dos embriões corrobora com Gross (1988), que afirmou que as sementes de Tillandsioideae variam muito mais do que o descrito na literatura.

Barfuss et al. (2005) sugerem que *Tillandsia* seja um gênero com divergência recente e nossos resultados corroboram com essa afirmação. De acordo com Takhtajan (1991), em táxons com divergência recente os embriões são grandes, o endosperma é reduzido, ou até mesmo ausente, e as substâncias de reserva são armazenadas no próprio embrião. As características citadas foram encontradas nas sementes maduras das espécies de *Tillandsia* analisadas e, podem ser consideradas adaptações que tornaram possível a colonização de diversos tipos de ambientes, contribuindo para a ampliação da sua área de distribuição.

O volume da semente ocupado pelo embrião, apesar de ser um bom caráter distintivo, não é a principal diferença observada entre as espécies analisadas. A diferença mais marcante está na relação presença/ausência de um conjunto de alterações ocorridas no eixo hipocótilo-radícula dos embriões. Nas espécies de *Vriesea* analisadas os embriões não apresentam diferenças entre a porção caulinar e a radicular. No entanto, nos embriões *Tillandsia* existe

uma região composta por células com características estruturais distintas das demais, que separam a região radicular do restante do embrião. A partir das características dessa região também é possível organizar as espécies de *Tillandsia* em dois grupos. *T. aeranthos*, *T. stricta* e *T. tenuifolia*, com eixo levemente deslocado. *T. geminiflora*, *T. recurvata* e *T. usneoides*, com eixo reto. Essas características corroboram com os resultados de Barfuss et al. (2005), os quais demonstraram o relacionamento próximo das espécies *T. aeranthos*, *T. tenuifolia* e *T. stricta*.

Billings (1904) notou que em *T. usneoides* quando o embrião atingia um determinado tamanho, as células epidérmicas e corticais do eixo hipocótilo-radícula tornavam-se distintas. Cecchi-Fiordi et al. (1996) observaram o mesmo tipo de alteração nos embriões de *T. flabelata* Back. e *T. schiedeana* Steud. e denominaram essa região de “zona de constrição”, relacionando a sua presença às espécies atmosféricas do gênero. Morra et al. (2002) analisando o desenvolvimento de *T. tricholepis* também notaram a presença dessa constrição. De acordo com os autores, a presença da zona de constrição entre a porção caulinar e a radicular, é o fator que determinará a ausência de raiz primária no processo de germinação das espécies de *Tillandsia*.

Segundo Mantovani e Iglesias (2005) as sementes das bromeliáceas que habitam ambientes extremos enfrentam diversos problemas até germinarem e, se estabelecerem como organismos autotróficos fotossintetizantes. Tal informação, aliada ao fato de que em muitas monocotiledôneas a raiz primária não tem função de absorção e degenera, nos faz concluir que, o investimento de recursos em sua formação é desvantajoso. Então, evitar o desenvolvimento da raiz primária e, reutilizar o conteúdo celular da região que será abortada, é um grande avanço na evolução das espécies de *Tillandsia* e pode favorecer a colonização de novos ambientes. A presença de feixes vasculares nos embriões das tillandsias, em contraste com a presença de cordões provasculares em vrieseas, corrobora com nossas inferências a respeito da utilização dos recursos disponíveis no próprio embrião. Além disso, indica que esses embriões estão em um estágio mais avançado de desenvolvimento.

Características do apêndice plumoso formado por dois “para-quedas” (que melhora a fixação no substrato), a coloração branco-translúcida (que reflete o excesso de radiação solar) e o aborto precoce da radícula (que aperfeiçoa o uso dos recursos energéticos) foram considerados distintivos para as tillandsias analisadas. Barfuss et al. (2005), sugerem a ocorrência de um segundo centro de dispersão das tillandsias em regiões mais áridas. Essas regiões são sabidamente mais difíceis de serem colonizadas e necessitam de espécies melhor adaptadas. Assim, as características observadas podem ter contribuído para a exploração de

novos nichos, aumentando a área de distribuição dessas plantas.

Segundo Cecchi-Fiordi et al. (2001) por serem epífitas extremas, modificações morfofisiológicas foram muito importantes para o sucesso das tillandsias. Billings (1904) observou que, além do cotilédone, uma expansão lateral envolvia o meristema apical caulinar do embrião de *T. usneoides*, e sugeriu que fosse um cotilédone vestigial. No entanto, Gross (1988) afirmou que o cotilédone dos embriões tem formato lobado e tais estruturas seriam expansões do cotilédone. As expansões laterais aqui observadas são expansões do próprio cotilédone, concordando com o afirmado por Gross (1988), e provavelmente tem como função a proteção da região meristemática. Além das características morfológicas, os tipos de substâncias de reserva armazenadas no embrião e no endosperma, também são uma adaptação importante para a colonização de ambientes. Cecchi-Fiordi et al. (2001) sugerem que devido a dificuldade de absorver água e sais minerais, a presença de proteínas de reserva é indispensável para a sobrevivência das plântulas, até que os tricomas foliares estejam completamente desenvolvidos.

Gross (1988) sugeriu que as espécies pertencentes aos subgêneros *Diaphoranthema* e *Anoplophytum* (aos quais pertencem as espécies de *Tillandsia* aqui analisadas) eram mais derivadas. Tais informações foram posteriormente confirmadas pela filogenia gerada por Barfuss et al. (2005) e condizem com o exposto em nossos resultados.

Em *Vriesea*, as sementes analisadas não apresentam diferenças nos embriões que pudessem ser utilizadas para a separação infragenérica. Gêneros que apresentam características relativamente constantes são considerados filogeneticamente mais velhos, do que aqueles que apresentam grande variabilidade (Gross, 1988). Devido à constância no tamanho e na forma dos embriões, e no tipo e na quantidade de substâncias de reserva armazenadas no endosperma das espécies de *Vriesea*, nossos dados não apontam diferenças que apoiem a separação em seções sugerida por Smith & Downs (1974) e por Smith & Till (1998).

Apesar de ambos os gêneros serem, tradicionalmente, caracterizados apenas pela presença ou ausência de apêndices petalíneos, o estudo morfoanatômico das sementes fornece caracteres capazes de auxiliar na distinção dos gêneros *Vriesea* e *Tillandsia*. Dentre eles estão: o arranjo estrutural e a coloração dos apêndices plumosos basais; o formato das sementes; a relação do tamanho do embrião com a quantidade de endosperma; os tipos de substâncias armazenadas no endosperma; a presença/ausência de camada de aleurona na região em contato com o embrião; a presença/ausência de uma zona de constrição separando a porção caulinar e a radicular do embrião, e a presença/ausência de feixes vasculares. Existem

também, algumas características mais sutis, que contribuem com a distinção entre as tillandsias analisadas, sendo elas: a forma das sementes (fusiforme x estreitamente fusiforme) e da porção mediana do eixo hipocótilo-radícula (levemente deslocado x reto). Cabe salientar que estudos futuros abordando a ontogenia dessas estruturas provavelmente aumentarão o número de caracteres informativos e esclarecerão possíveis homologias.

Mesmo não incluindo todas as espécies pertencentes aos gêneros *Vriesea* e *Tillandsia*, as informações referentes aos envoltórios, ao endosperma e ao embrião das sementes são promissoras para a compreensão das relações filogenéticas de Tillandsioideae, merecendo novos trabalhos que aumentem o número de espécies estudadas e, contribuam com dados morfológicos reprodutivos que possam ser utilizadas como caracteres taxonômicos distintivos. Aqui, foi possível reconhecer grupos taxonômicos, evidenciando a riqueza de informações que as sementes proporcionam. Além disso, algumas das características destacadas ao longo do trabalho são facilmente observadas sob estereomicroscópio, podendo ser utilizadas por taxonomistas na delimitação dos gêneros e de algumas espécies.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pelo suporte técnico; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de Mestrado concedida a primeira autora; à Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, por permitir o uso das plantas da Coleção de Bromeliaceae do Jardim Botânico de Porto Alegre; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo apoio financeiro.

Referências

- Barfuss MHJ, Samuel R, Till W, Stuessy TF (2005) Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *American Journal of Botany* 92: 337-351
- Becraft PW (2007) Aleurone Cell Development. In: Olsen AO (Ed). *Endosperm: Development and molecular biology*, Springer, Berlin pp 45-56
- Benzing DH (2000) *Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation*. Cambridge University Press, Cambridge
- Billings FH (1904) A study of *Tillandsia usneoides*. *Botanical Gazette* 38: 99-121
- Brown GK, Terry RG (1992) Petal Appendages in Bromeliaceae. *American Journal of Botany* 79: 1051-1071

- Cecchi-Fiordi A, Palandri MR, Tani G, Di Falco P (1996) Cytological aspects of the hypocotyl correlated to the behavior of the embryo radicle of *Tillandsia* atmospheric species. *Caryologia* 49: 113-124
- Cecchi-Fiordi A, Palandri MR, Turicchia S, Tani G, Di Falco P (2001) Characterization of the seed reserves in *Tillandsia* (Bromeliaceae) and ultrastructural aspects of their use at germination. *Caryologia* 54: 1-16
- Cocucci A (2005) Morphogenetic seed types of Spermatophyta. *Plant Systematics and Evolution* 250:1-6
- Corner EJH (1976) The seeds of dicotyledons. Cambridge University Press, Cambridge
- Espejo-Serna A (2002) *Viridantha*, un género nuevo de Bromeliaceae (Tillandsioideae) endémico de México. *Acta Botánica Mexicana* 60: 25-35
- Gabriel BL (1982) Biological electron microscopy. Van Nostrand Reinhold Company, New York
- Larkins BA, Vasil IK (1997) Cellular and molecular biology of plant seed development Kluwer Academic Publishers, The Netherlands
- Gerrits PO, Smid L (1983) A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132: 81-85
- Gersterberger P, Leins P (1978) Rasterelektronmikroskopische untersuchungen an blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae). Anwendung einer neuen präparationsmethode. *Berichte der Deutsche Botanische Gesellschaft* 91: 381-387
- Givnish TJ, Millam KC, Berry PE, Systma KJ (2007) Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso* 23:3-26
- Grant J. R. 1993b True tillandsias misplaced in *Vriesea* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Phytologia* 75: 170-175
- Gross E (1988) Bromelienstudien IV. Zur Morphologie der Bromeliaceen-Samen unter Berücksichtigung Systematisch-taxonomischer Aspekte. *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* 64: 415–625
- Jensen WA (1962) Botanical Histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman, São Francisco
- Johansen DA (1940) Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Co., New York
- Johri BM (1984) Embriology of Angiosperms. Springer-Verlag., Berlin
- Johri BM, Ambegaokar KB, Srivastava OS (1992) Comparative Embryology of Angiosperms.
- Kumamaru T, Ogawa M, Satoh H, Okita TW (2007) Protein Body Biogenesis in Cereal Endosperms. In: Olsen OA. Endosperm: development and molecular biology. Springer, Berlin, pp 141-158
- Luther HE (2008) An alphabetical list of Bromeliad binomials. 11th ed. Bromeliad Society International, Sarasota
- Mantovani A, Iglesias RR (2005). Quando aparece a primeira escama? Estudo comparativo sobre o surgimento de escamas de absorção em três espécies de bromélias terrestres de restinga. *Rodriguésia* 56: 73-84
- Martinelli G, Vieira CM, Gonzalez M, Leitman P, Piratininga A, Costa, AF, Forzza RC (2008) Bromeliaceae da Mata Atlântica Brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. *Rodriguésia* 59: 209-258
- McDowell EM, Trump BR (1976) Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology and Laboratory of Medicine* 1000: 405-414
- Morra L, Dottori N, Cosa MT. Ontogenia y anatomia de semilla y fruto en *Tillandsia tricholepis* (Bromeliaceae) (2002) *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37: 193-201
- Nakamura AT, Longhi-Wagner HM, Scatena, VL (2009) Desenvolvimento de óvulo, fruto e semente de espécies de Poaceae (Poales). *Revista Brasileira de Botânica* 32: 165-176
- O'Brien TP, McCully ME (1981) The study of plant structure: principles and selected methods. *Terrestrial*

Pty, Melbourne

- Palací CA, Brown GK, Tuthill DE (2004) The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Systematic Botany* 29: 518-527
- Smith LB, Downs RJ (1974) Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *In* *Flora Neotropica*. Monograph 14, vol. 1, 1–660. Hafner Press, New York, New York, USA
- Smith LB, Downs RJ (1977) Tillandsioideae (Bromeliaceae). *In* *Flora Neotropica*. Monograph 14, vol. 2, 661–1492. Hafner Press, New York, New York, USA
- Smith LB, Downs RJ (1979) Bromelioideae (Bromeliaceae). *In* *Flora Neotropica*. Monograph 14, vol. 3, 1493–2142. New York Botanical Garden, Bronx, New York, USA
- Smith LB, Till W (1998) Bromeliaceae. *In* K. Kubitzki [ed.], *The families and genera of vascular plants*, vol. 4, 74–99. Springer, Berlin, Germany
- Southworth, D (1973) Cytochemical reactivity of pollen walls. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 21: 73-80
- Szidat L (1922) Die Samen der Bromeliaceen in ihrer Anpassung an den Epiphytismus. *Botanisches Archiv* 1:29–46
- Takhtajan A (1991) *Evolutionary Trends in Flowering Plants*. Columbia Univ. Press, New York
- Von Teichman I, Van Wyk AE (1991) Trends in the evolution of dicotyledonous seeds based on character associations, with special reference to pachychalazy and recalcitrance. *Bot. J. Linn. Soc.* 105: 211-237

Tabela 1 Registro das espécies de *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. analisadas.

Táxon	Local da Coleta	Nº de registro
<i>Vriesea</i> Seção <i>Vriesea</i>		
<i>V. carinata</i> Wawra	Dom Pedro de Alcântara, RS Terra de Areia, RS Osório, RS	ICN 144794 BROM00534 BROM00549
<i>V. corcovadensis</i> Mez	Porto Alegre, RS Cambará do Sul, RS Não informado	ICN 140786 BROM00620 BROM00814
<i>V. flammea</i> L.B.Sm.	Dom Pedro de Alcântara, RS Dom Pedro de Alcântara, RS Dom Pedro de Alcântara, RS	ICN 144795 BROM00624 BROM00619
<i>V. incurvata</i> Gaudich.	Maquiné, RS Maquiné, RS	BROM00090 BROM00800
<i>V. rodigasiana</i> E.Morren	São Lourenço do Sul, RS Maquiné, RS Itati, RS	BROM00812 BROM00813 BROM00852
<i>V. psittacina</i> Lindl.	Viamão, RS Viamão, RS Porto Alegre, RS	BROM00063 BROM00103 BROM00351
<i>Vriesea</i> Seção <i>Xiphion</i>		
<i>V. gigantea</i> Gaudich.	Porto Alegre, RS Terra de Areia, RS	ICN 183677 BROM00748
<i>V. platynema</i> Gaudich.	Piratuba, SC Canela, RS Barracão, RS	BROM00718 BROM00786 BROM00804
<i>Tillandsia</i> Subgênero <i>Anoplophytum</i>		
<i>T. aeränthos</i> (Loisel.) L.B.Sm.	Porto Alegre, RS	ICN 188807
<i>T. geminiflora</i> Brogn.	Camaquã, RS Porto Alegre, RS	ICN 183675 ICN 183676
<i>T. stricta</i> Sol. ex Sims	Caçapava do Sul, RS Machadinho, RS São Pedro do Sul, RS	BROM00632 BROM00714 BROM00753
<i>T. tenuifolia</i> L.	Nova Roma, RS Nova Palma, RS Maximiliano de Almeida, RS	BROM00610 BROM00727 BROM00760
<i>Tillandsia</i> Subgênero <i>Diaphoranthema</i>		
<i>T. usneoides</i> (L.) L.	Santo Antônio da Patrulha, RS Rolante, RS Machadinho, RS	BROM00211 BROM00224 BROM00713
<i>T. recurvata</i> (L.) L.	Maquiné, RS Vila Maria, RS Toropi, RS	BROM00449 BROM00715 BROM00724

Tabela 2 Aspectos morfológicos das sementes de *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. Valores médios de 10 sementes maduras, medidas sob estereomicroscópio

Táxon	Comprimento (mm)	Forma*	Embrião/Endosperma(%)**
<i>Vriesea</i> Seção <i>Vriesea</i>			
<i>V. carinata</i>	3,4	Filiforme	28/ 72
<i>V. corcovadensis</i>	4,1	Filiforme	27/ 73
<i>V. flammea</i>	4,0	Filiforme	27/ 73
<i>V. incurvata</i>	3,6	Filiforme	29/ 71
<i>V. psittacina</i>	3,4	Filiforme	29/ 71
<i>V. rodigasiana</i>	3,7	Filiforme	27/ 73
<i>Vriesea</i> Seção <i>Xiphion</i>			
<i>V. gigantea</i>	4,8	Filiforme	25/ 75
<i>V. platynema</i>	4,5	Filiforme	23/ 77
<i>Tillandsia</i> Subg. <i>Anoplophytum</i>			
<i>T. aeranthos</i>	2,5	Fusiforme	66/ 34
<i>T. geminiflora</i>	4,7	Est. fusiforme	67/ 33
<i>T. stricta</i>	3,4	Fusiforme	73/ 27
<i>T. tenuifolia</i>	2,7	Fusiforme	65/ 35
<i>Tillandsia</i> Subg. <i>Diaphoranthema</i>			
<i>T. usneoides</i>	3,2	Est. fusiforme	65/ 35
<i>T. recurvata</i>	3,1	Est. fusiforme	100/ 0

* Est. = Estreitamente. ** Porção ocupada pelo embrião e pelo endosperma no interior da semente.

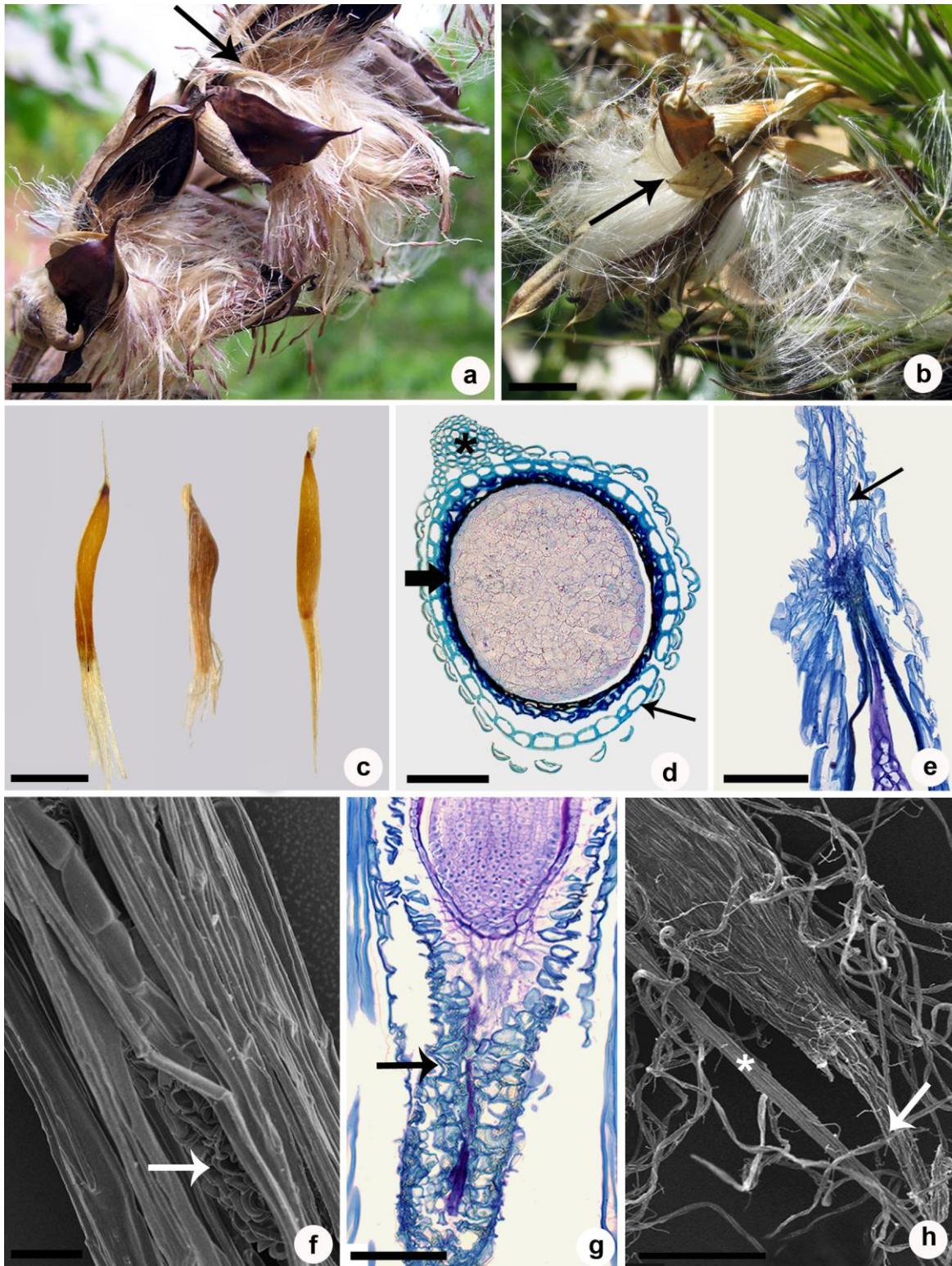


Fig. 1 Aspecto geral e envoltórios das sementes de *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. a) *V. gigantea* Gaudich. Sementes com apêndices plumosos amarelo-translúcidos em posição basal. b) *T. aeranthos* (Loisel.) L.B.Sm. Sementes com apêndices plumosos branco-translúcidos em posição basal. c) *V. carinata* Wawra, *T. aeranthos* e *T. geminiflora* Brogn. Forma das sementes: filiforme, fusiforme e estreitamente fusiforme, respectivamente. d) *T. tenuifolia* L. Seção transversal indicando as camadas celulares da testa (seta fina), do tégmen (seta larga) e funículo (*). e) *T. recurvata* (L.) L. Feixes vasculares do funículo na região calazal. f-g) *V. carinata*. Região do endóstoma (seta). h) *T. geminiflora*. Prolongamento do tégmen (seta) e funículo (*). Barras: 1 cm (a,b); 1 mm (c); 500 µm (h); 100 µm (e,g); 50 µm (d,f).

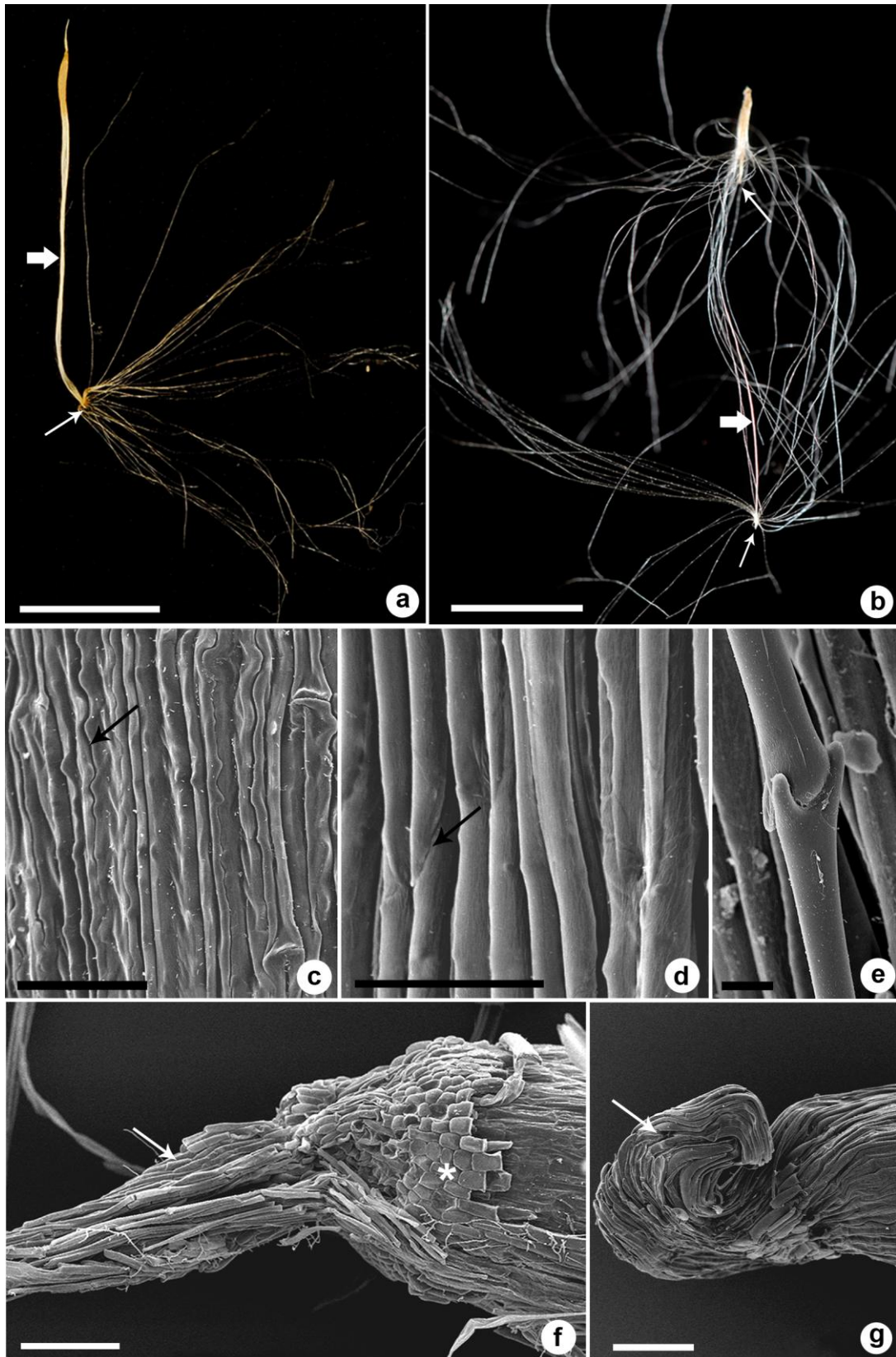


Fig. 2 Características dos apêndices de *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. a) *V. carinata* Wawra. Região do exóstoma (seta fina) e haste (seta larga). b) *T. geminiflora* Brogn. Região do endóstoma (seta fina - acima), exóstoma (seta fina - abaixo) e haste (seta larga). c) *V. incurvata* Gaudich. Células da endotesta com paredes anticlinais onduladas (seta). d) *T. geminiflora*. Células da endotesta com conexões inclinadas (seta). e) *T. usneoides* (L.) L. Extremidade bifurcada das células dos apêndices basais. f) *V. gigantea* Gaudich. Apêndice apical (seta) e células da testa (*). g) *T. aeranthos*. Apêndice apical (seta). Barras: 1 cm (a,b); 100 μ m (f,g); 50 μ m (c,d); 10 μ m (e).

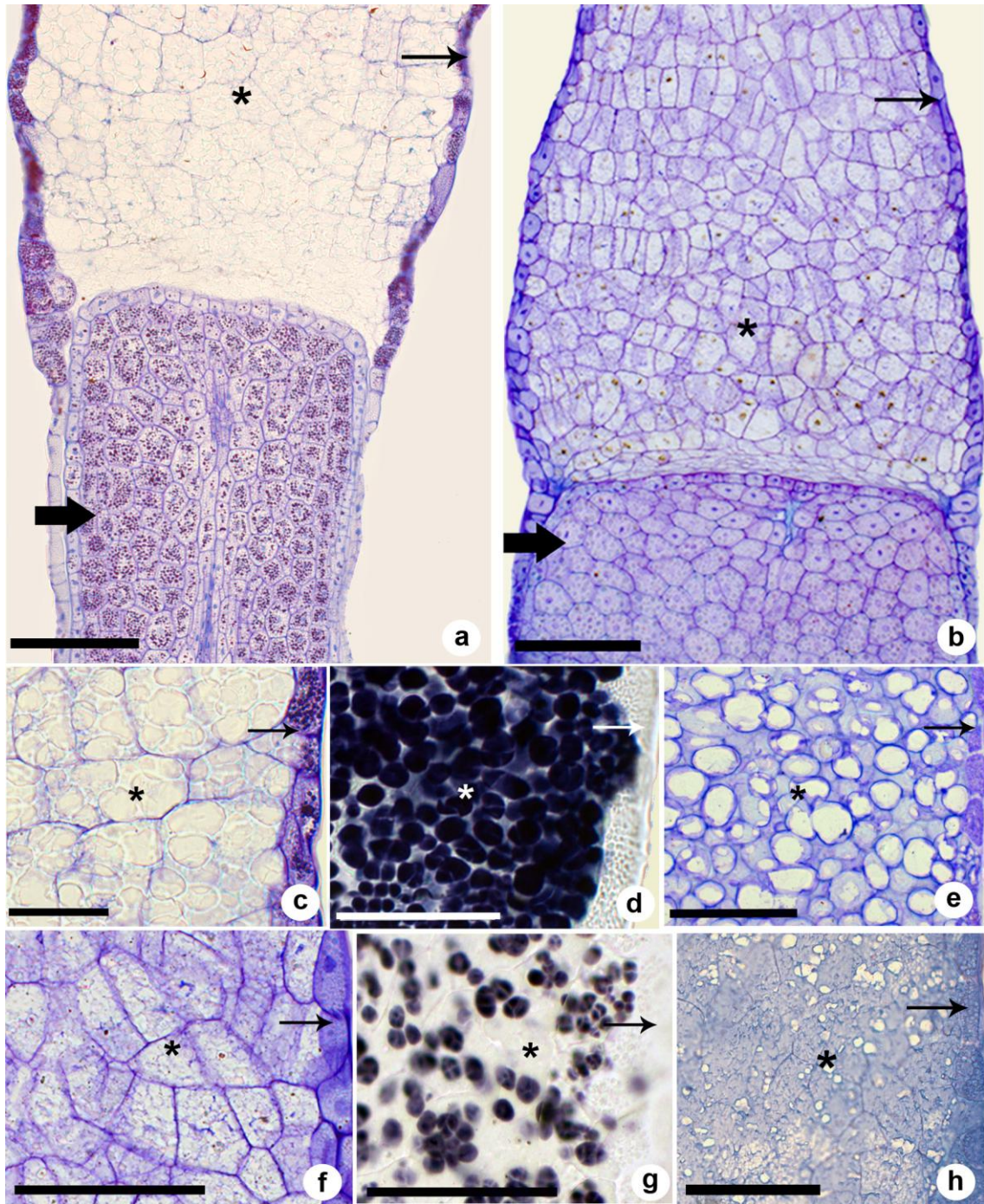


Fig. 3 Endosperma de *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. a-b) Aspecto geral do endosperma. a) *V. carinata* Wawra. b) *T. aeranthos* (Loisel.) L.B.Sm. c) Detalhe das células do endosperma de *V. carinata*. d) Reação positiva a solução de Lugol nas células centrais e ausência de reação na camada periférica. e) Ausência de reação ao Coomassie Blue nas células centrais e reação positiva na camada periférica. f) Detalhe das células do endosperma de *T. aeranthos*. g) Reação positiva a solução de Lugol nas células centrais e ausência de reação na camada periférica. h) Ausência de reação ao Coomassie Blue nas células centrais e reação positiva na camada periférica. Camadas centrais do endosperma (*). Camada periférica (seta fina). Embrião (seta larga). Barras: 100 µm (a,b); 50 µm (c-e; f-h).

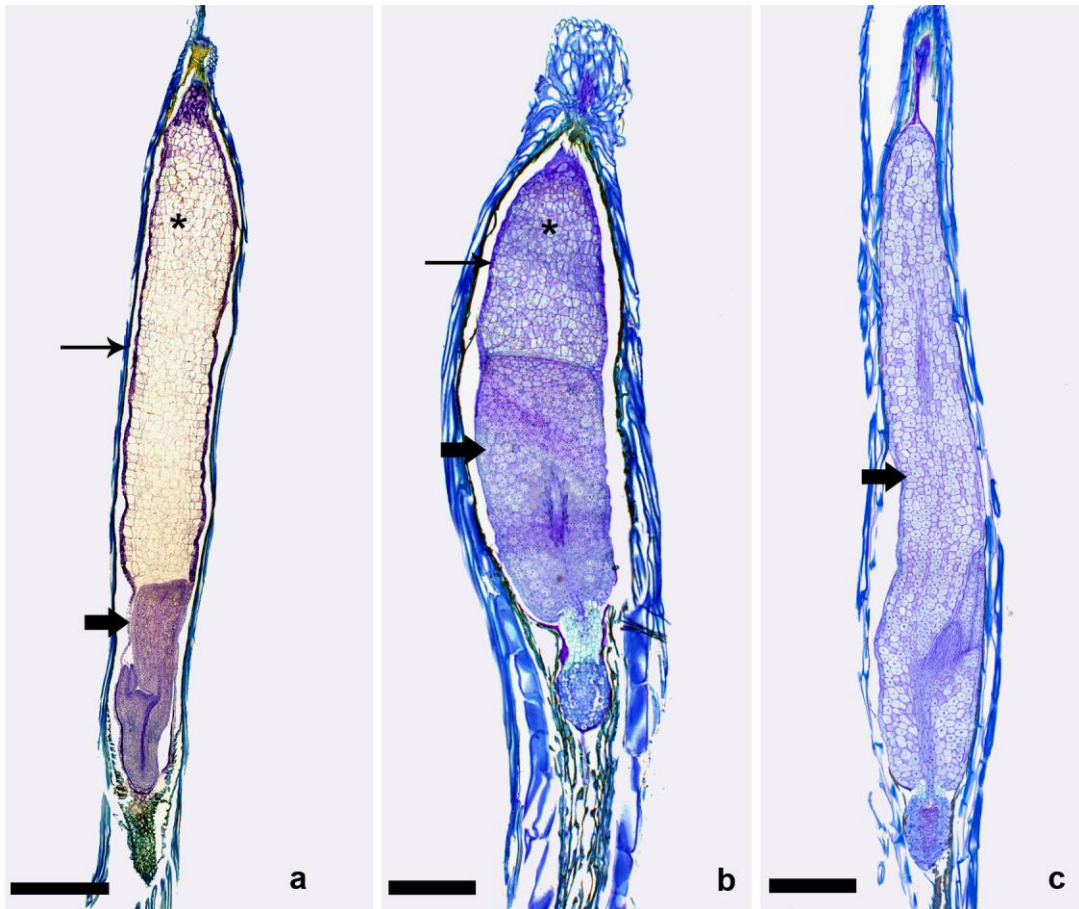


Fig. 4 Proporção endosperma/embrião. a-c. Aspecto geral das sementes de *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. a) *V. carinata* Wawra. O embrião é pequeno e a maior porção da semente é preenchida pelo endosperma. b) *T. aeránthos* (Loisel) L.B.Sm. O embrião ocupa mais da metade da semente e o restante é preenchido pelo endosperma. c) *T. recurvata* (L.) L. O embrião ocupa todo o interior da semente e o endosperma foi completamente consumido. Camadas centrais do endosperma (*). Camada periférica do endosperma (seta fina. Embrião (seta larga). Barras: 500 μ m.

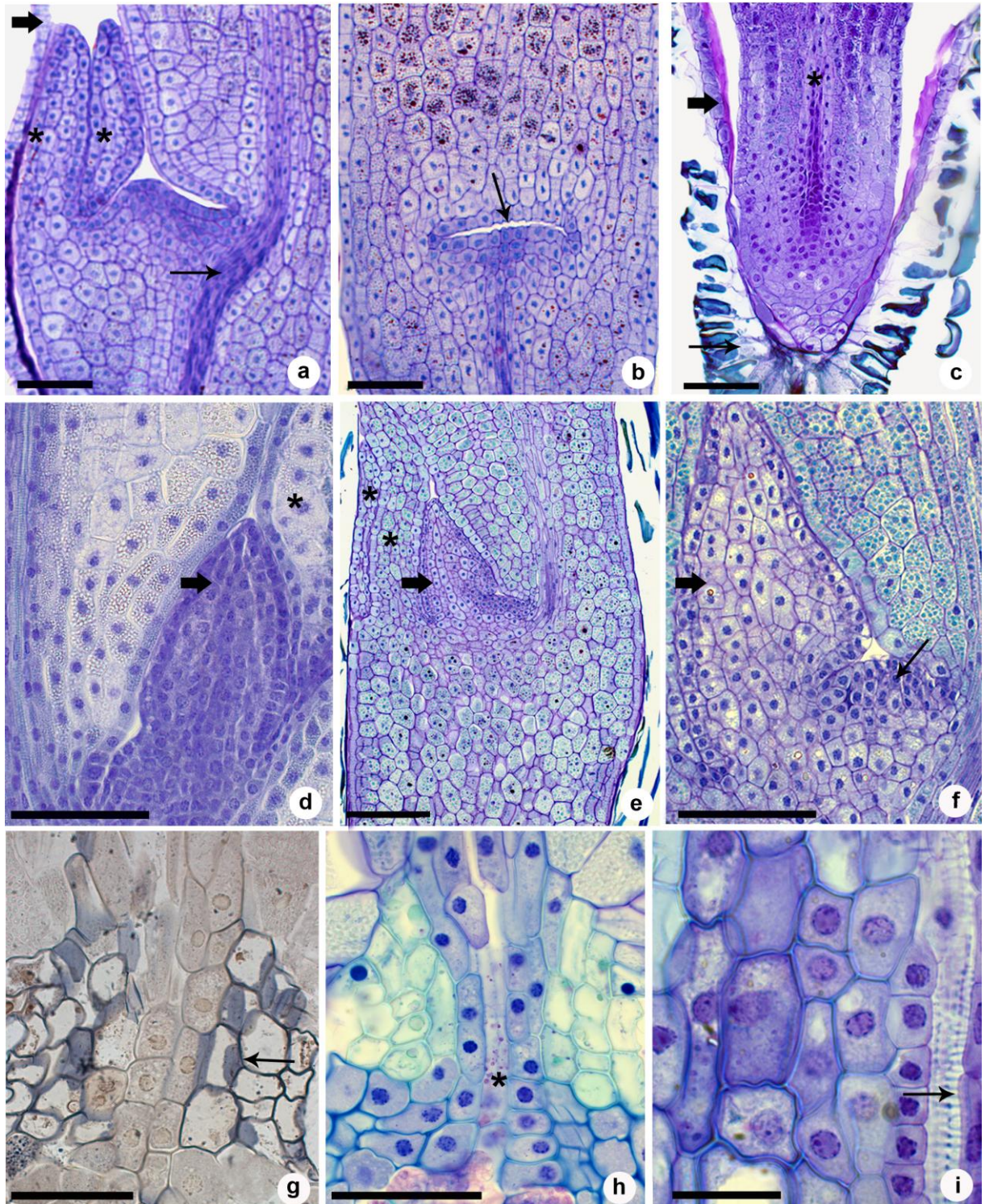


Fig. 5 Características dos embriões de *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. a-c) *V. carinata* Wawra. a) Expansões laterais (*) envolvendo o ápice caulinar e cordões provasculares (seta). b) Ápice caulinar. c) Radícula do embrião (*) e camada periférica do endosperma (seta larga). A seta fina indica os restos do envoltório. d) *T. recurvata* (L.) L. Expansões laterais (*) e primórdio foliar em desenvolvimento (seta larga). e) *T. geminiflora* Brogn. Expansões laterais (*) envolvendo o ápice caulinar (seta fina) e primórdio foliar (seta larga). f) Detalhe do meristema apical caulinar (seta fina) e primórdio foliar (seta larga). g-h) *T. recurvata* (L.) L. g) Deposição de lipídios nas paredes celulares (seta) na região mediana do eixo hipocótilo-radícula (reação ao Sudan Black). h) Mobilização de substâncias (*) da porção radicular para a porção caulinar do embrião e presença de compostos fenólicos nas paredes. i) Traqueídes com espessamento reticulado (seta). Barras: 100 μm (d); 50 μm (a,b, c, e, f); 30 μm (g,h); 10 μm (i).

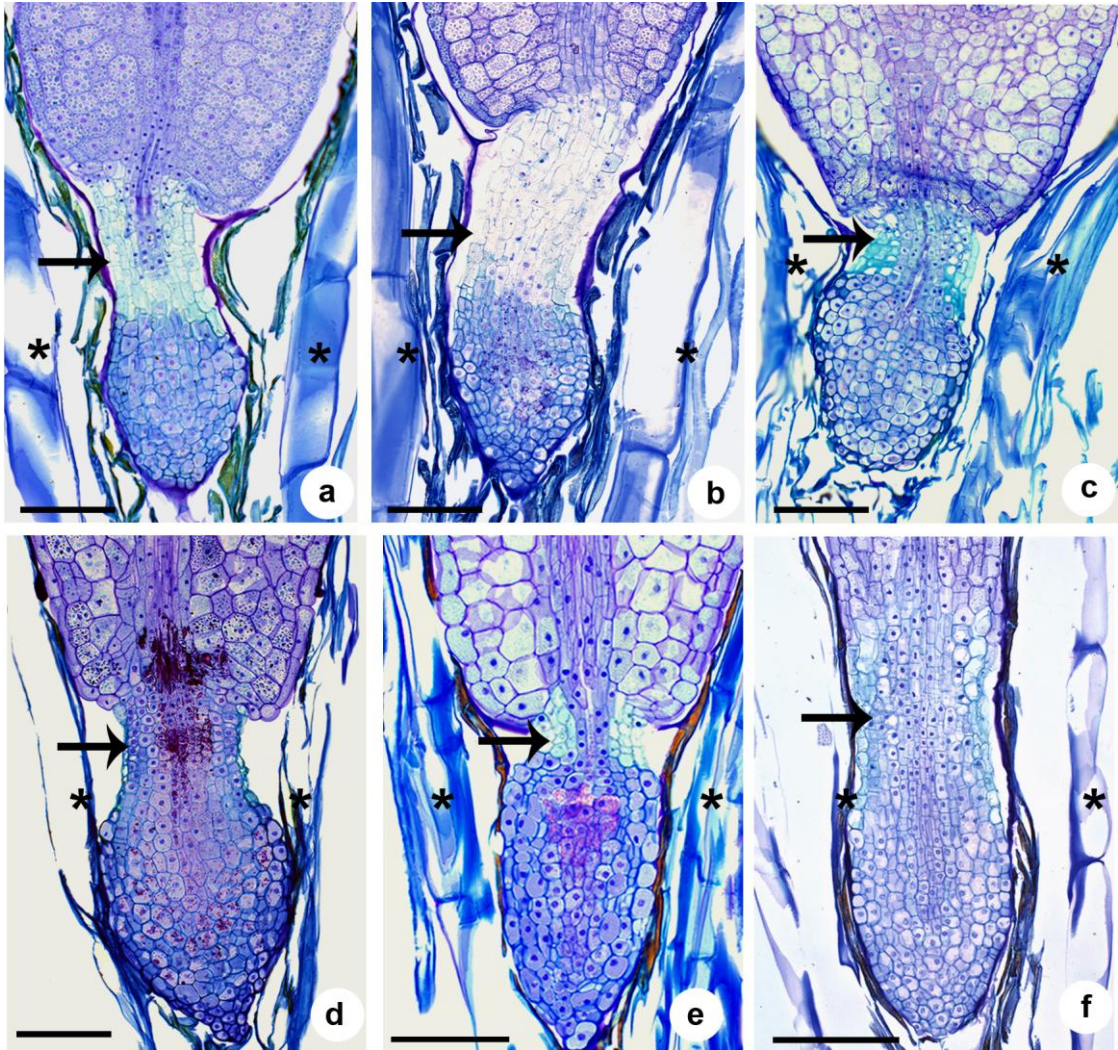


Fig. 6 Radícula do embrião das espécies de *Tillandsia* L. a-c. Eixo hipocótilo-radícula levemente deslocado (seta). a) *T. aeranthos* (Loisel) L.B.Sm b) *T. stricta* Sol. ex. Sims. c) *T. tenuifolia* L. d-f. Eixo hipocótilo-radícula reto (seta). d) *T. geminiflora* Brogn. e) *T. recurvata* (L.) L. f) *T. usneoides* (L.) L. Asteriscos indicam parte do envoltório da semente. Barras: 100 μ m.

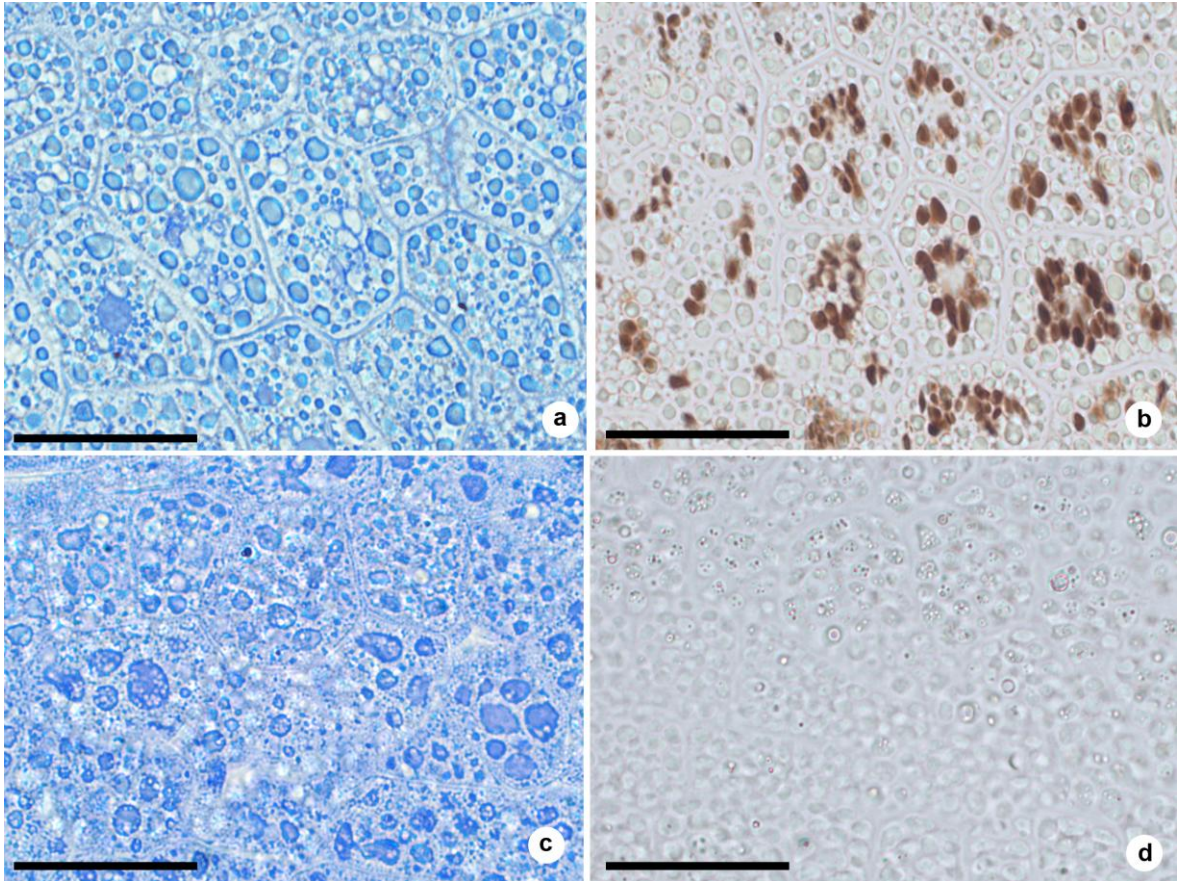


Fig. 7 Substâncias de reserva no embrião. a-b) *Tillandsia aeränthos* (Loisel.) L.B.Sm. a) Reação positiva ao Coomassie Blue. b) Reação positiva a solução de Lugol. c-d) *Vriesea incurvata* Gaudich.c) Reação positiva ao Coomassie Blue. d) Ausência de reação a solução de Lugol. Barras: 10 μ m.

CAPÍTULO III

**Uso da morfoanatomia na interpretação do comportamento germinativo das sementes
de *Tillandsia* L. e *Vriesea* Lindl.**

Raquel I. Magalhães, Jorge E. A. Mariath

Morfoanatomia na interpretação do comportamento germinativo das sementes de *Tillandsia L.* e *Vriesea Lindl.*¹

Raquel I. Magalhães², Jorge E. A. Mariath³

²Laboratório de Anatomia Vegetal, Instituto de Biociências

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CEP: 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil

³ Pesquisador CNPq. e-mail: jorge.mariath@ufrgs.br

¹ Este artigo é parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora, no Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

**Morfoanatomia na interpretação do comportamento germinativo das sementes de
Tillandsia L. e *Vriesea* Lindl.**

Abstract

Seeds and seedlings of *T. geminiflora*, *T. recurvata*, *V. corcovadensis*, *V. incurvata* and *V. gigantea* were studied aiming to compare morphological and anatomical features of these seeds with their germination behavior, in order to provide informative data with taxonomic value. The beginning of seed germination is marked by the release of the eophyll in *Tillandsia*, and the cotyledon base/ hypocotyl in *Vriesea*. In the albuminous seeds, the cotyledon remains inside the seed, consuming the endosperm reserves. There was no root development. From the behavior of the seed coat, it is possible to distinguish two types of seed germination, which allow the grouping of the species in their respective genera. Moreover, the study of germinating seeds associated with their morphoanatomy provides a clear description of the structures involved in the germination process.

Keywords: Bromeliaceae; Monocots; *Tillandsia*; Tillandsioideae; *Vriesea*

Resumo

Sementes e plântulas de *T. geminiflora*, *T. recurvata*, *V. corcovadensis*, *V. incurvata* e *V. gigantea* foram analisadas com o objetivo de comparar as características anatômicas das sementes com o comportamento germinativo das mesmas. O início da germinação é marcado pela emissão do eófilo em *Tillandsia*, e pela base do cotilédone/hipocótilo, em *Vriesea*. Nas sementes albuminosas, o cotilédone permanece no interior das sementes utilizando as reservas disponíveis no endosperma. Não ocorreu desenvolvimento de raiz primária em nenhuma das espécies analisadas. A partir do comportamento dos envoltórios das sementes, é possível distinguir dois tipos de germinação, os quais permitem o agrupamento das espécies analisadas em seus respectivos gêneros. Além disso, o estudo do comportamento germinativo associado à morfoanatomia das sementes possibilitou uma descrição clara das estruturas envolvidas no processo de germinação.

Palavras-chave: Monocotiledôneas; *Tillandsia*; Tillandsioideae; *Vriesea*;

Introdução

A morfologia das sementes é amplamente explorada em famílias com grande potencial econômico como Fabaceae, Solanaceae e Poaceae (Oliveira, 1999; Zhang et al., 2005; Nakamura et al., 2009). A importância ecológica e econômica dos representantes de Bromeliaceae e, as frequentes mudanças na sistemática da família tem estimulado diversos estudos germinativos. O comportamento germinativo das sementes parece ser bastante promissor na busca por melhores condições de cultivo e na adição de caracteres distintivos para a delimitação de táxons (Stringheta et. al 2005; Gross, 1988). No entanto, são poucas as informações disponíveis sobre a anatomia das sementes que possam auxiliar nesses estudos.

Mantovani & Iglesias (2005), Scatena et al. (2006), Tillich (2007) e Pereira et al. (2008;2009) afirmaram que características morfológicas das plântulas das bromeliáceas são capazes de auxiliar na delimitação taxonômica de representantes das subfamílias tradicionais (Bromelioideae, Pitcairnioideae e Tillandsioideae). Com base na literatura, fica evidente que o estudo do desenvolvimento pós-seminal é promissor, podendo gerar novos dados morfológicos sobre a família e, futuramente auxiliarão os estudos taxonômicos. No entanto, devido a escassez de trabalhos anatômicos sobre sementes, a interpretação do processo germinativo tem se mostrado pouco consistente, principalmente nos estudos realizados com os gêneros *Tillandsia* L. e *Vriesea* Lindl.

Com o intuito de descrever o comportamento germinativo das sementes de representantes dos gêneros *Tillandsia* e *Vriesea*, tendo como base as características morfoanatômicas das sementes, foram analisadas sementes e plântulas de *T. geminiflora* Brogn., *T. recurvata* (L.) L., *V. corcovadensis* Mez, *V. gigantea* Gaudich e *V. incurvata* Gaudich.

Material e Métodos

As sementes maduras foram coletadas de frutos recém abertos na Coleção de Bromélias do Jardim Botânico da Fundação Zoobotânica de Porto Alegre e em Municípios do Rio Grande do Sul (Tab. 1). O material testemunho dos espécimes coletados no Rio Grande do Sul, foi depositado no Herbário do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN).

Para os experimentos de germinação, as sementes foram depositadas em placas de Petry, sobre duas camadas de papel filtro, umedecidas com 2 ml de água destilada e mantidas

sob temperatura ambiente. Os apêndices plumosos das sementes foram removidos para facilitar a interpretação das estruturas. A observação da germinação, do ponto de vista morfológico, foi realizada com auxílio de estereomicroscópio Wild M7A.

Para observação das sementes germinadas em microscopia eletrônica de varredura o material foi lavado em tampão fosfato de sódio, desidratado em série etúlica ascendente (0-100%) e transferido para acetona 100%. Após essas etapas, as sementes foram submetidas a secagem através do método do ponto crítico (Gersterberger & Leins 1978), no equipamento BAL-TEC, CPD 030. Então, as sementes foram aderidas a suportes de alumínio com fita carbono dupla-face e metalizadas com ouro, no aparelho BAL-TEC SCD 050. A análise foi realizada em microscópio eletrônico de varredura JEOL 6060, sob 10 kV.

Resultados

Foi demonstrado no capítulo II que as sementes são providas de apêndices plumosos basais (região micropilar), oriundos da separação das camadas celulares que constituem a testa da semente. Em *V. corcovadensis*, *V. gigantea* e *V. incurvata*, os embriões são pequenos em relação ao tamanho da semente, ocupando cerca de $\frac{1}{3}$ do seu interior. O endosperma é amiláceo e protéico, servindo de reserva para o embrião durante a fase inicial do processo de germinação. Em *T. recurvata* o embrião ocupa todo o interior da semente madura e o endosperma já foi completamente consumido. Em *T. geminiflora* o endosperma armazena amido e proteínas, porém em menor quantidade que em *Vriesea*, e o embrião ocupa cerca de $\frac{2}{3}$ do interior da semente (Figs. 1-4).

A partir das modificações que ocorrem nos envoltórios das sementes é possível distinguir dois tipos de germinação.

Tipo I: Ocorre em *T. geminiflora* e *T. recurvata* (Figs. 5-7) – O embrião reidrata, aumenta em volume e o envoltório da semente sofre um estiramento, permitindo a emergência do eófilo. A germinação do ponto de vista morfológico ocorreu aproximadamente trinta dias após o início do experimento e não houve desenvolvimento de raiz primária.

Tipo II: *V. corcovadensis*, *V. gigantea* e *V. incurvata* (Figs. 8-12) - O embrião reidrata, aumenta em volume e o cotilédone projeta o embrião em direção a micrópila, rompendo o envoltório da semente na região próxima ao endóstoma. A germinação é marcada pela emergência da base do cotilédone/hipocótilo, que pôde ser visualizada após sete dias do início do experimento. O endóstoma permanece sobre a região da radícula, formando uma estrutura semelhante a uma coifa. Após aproximadamente doze dias da embebição observa-se a

emergência do eófilo.

Em *V. incurvata* (Figs. 13-15) foram observados tricomas ao redor da radícula do embrião. Com o surgimento das escamas peltadas, toda a porção radicular degenera, incluindo os tricomas. Essa degeneração da radícula ocorreu em todas as espécies analisadas.

Discussão

Segundo Johri (1984), existem poucas informações sobre os aspectos estruturais da germinação das sementes. Isso ocorre porque os anatomistas analisam apenas sementes maduras, sem envolver a germinação. Enquanto que anatomistas e morfologistas vegetativos iniciam com a plântula, sem considerar a semente madura.

Embora a germinação das sementes seja, geralmente, associada ao rompimento do envoltório da semente pela raiz primária, nossos dados corroboram com a ausência de desenvolvimento de raiz primária em espécies de *Tillandsia*, como relatado por Scatena et al. (2006). Em *Tillandsia*, a primeira estrutura a emergir não é a raiz primária, mas o eófilo. Cecchi-Fiordi et al. (1996) demonstraram a existência de uma zona de constrição na região mediana do eixo hipocótilo-radícula de espécies de tillandsias atmosféricas. Tal região foi considerada responsável pela atrofia da raiz primária das plântulas dessas espécies e, muitas vezes, separa a porção radicular da caulinar do embrião mesmo antes da semente germinar.

Scatena et al. (2006) afirmaram que a germinação das sementes de *Tillandsia* é marcada pelo desenvolvimento de um cotilédone haustorial, que surge em cerca de 20 dias. Em suas ilustrações, a estrutura indicada na porção micropilar (basal) como sendo um cotilédone haustorial é, segundo nossos resultados, a radícula do embrião, que sofre um pequeno aumento em volume. Os cotilédones haustoriais absorvem as reservas acumuladas no endosperma (Jacobsen, 1984), crescendo em direção a esse tecido. Nossos resultados indicam a presença de um cotilédone voltado para a porção calazal das sementes, que permanece no interior da semente até que as reservas do endosperma sejam consumidas. Além disso, segundo Borghetti & Ferreira (2004) a germinação do ponto de vista morfológico ocorre com a protrusão de uma das partes do embrião através do envoltório da semente e, devem mostrar algum sinal de crescimento real, como por exemplo, a curvatura da raiz ou da parte aérea. Assim, mesmo que a estrutura ilustrada por Scatena et al. (2006) fosse um cotilédone haustorial, esse deveria demonstrar um crescimento real, o que não é observado a partir das ilustrações. Portanto, a germinação é marcada pela emergência do eófilo, e não do cotilédone.

Nas espécies de *Vriesea*, também não houve desenvolvimento de raiz primária. No

entanto, não há formação de uma zona de constrição como em *Tillandsia*. Em vrieseas, parte do tégmen (endóstoma), permanece aderida a porção radicular do embrião. É possível que essa estrutura atue como uma barreira mecânica, que dificulta o desenvolvimento da raiz primária.

Pereira et al. (2008,2009) observaram o desenvolvimento pós-seminal de *V. heterostachys* (Baker) L.B. Sm. e *V. penduliflora* L. B. Sm. Segundo os autores, a germinação é marcada pela emergência da base do cotilédone, com posterior desenvolvimento da raiz primária. De acordo com os nossos resultados, a germinação também é marcada pela emergência da base do cotilédone. Porém, em nenhum momento ocorreu o desenvolvimento de raiz primária nas espécies analisadas. A partir das nossas observações, a estrutura que permanece aderida sobre a porção radicular do embrião e, é descrita como coifa por Pereira et al. (2008,2009), é na verdade parte do tégmen (endóstoma), que atua como uma coifa, protegendo a porção radicular.

Apenas na espécie *V. incurvata* são observados tricomas radiculares. Com o surgimento das escamas peltadas, toda a porção radicular do embrião degenera, inclusive os tricomas. Segundo Gross (1988) a presença de tricomas na fase inicial do processo de germinação é raro. O desenvolvimento dessas estruturas pode estar associado a fixação da plântula no substrato, principalmente quando o hábito é epifítico. Além disso, podem auxiliar na absorção de água na fase inicial de desenvolvimento da plântula, enquanto as escamas peltadas não estão completamente desenvolvidas e funcionais.

Mantovani & Iglesias (2005) relataram o desenvolvimento de raiz primária em *V. neoglutinosa* Mez e enfatizaram a ausência de tricomas radiculares. Segundo esses autores, a presença de tricomas pode ser usada como um caráter distintivo na delimitação de táxons. No entanto, afirmam que o desenvolvimento da raiz primária ocorre na porção apical das sementes. As sementes de Tillandsioideae pertencentes aos gêneros *Guzmania* Ruiz & Pav., *Tillandsia* e *Vriesea* tem, comprovadamente, apêndices plumosos basais em relação ao fruto, aderidos a semente na região micropilar (Szidat, 1922; Smith & Downs, 1977; Gross, 1988; Morra, 2002; Palací, 2004). A porção radicular do embrião é voltada para a micrópila e caso haja desenvolvimento de raiz primária, tal órgão estaria na porção basal dessas sementes, e não na apical. Além disso, a estrutura classificada como raiz primária, assemelha-se a base do cotilédone como observado por Pereira et al. (2008; 2009) e em nossos resultados.

Se considerarmos os dois tipos de germinação, descritos a partir da ruptura dos envoltórios das sementes, podemos estabelecer um padrão germinativo para cada gênero (Tipo I – *Tillandsia*; Tipo II - *Vriesea*). Apesar das divergências nomenclaturais observadas

na literatura, se compararmos as descrições e as ilustrações já publicadas, podemos verificar que esses padrões se mantêm. Assim, os caracteres germinativos parecem ser úteis na delimitação de táxons, podendo ser utilizados em estudos taxonômicos.

Em estudos germinativos é importante reconhecer as estruturas que compõem as sementes, a localização do embrião e os tecidos de reserva (Jacobsen, 1984). A partir das características anatômicas e do comportamento germinativo das sementes das espécies analisadas, é possível concluir que o conhecimento anatômico da semente madura, é indispensável para a interpretação do processo de germinação. A interpretação equivocada dessas estruturas, muitas vezes, gera dados inconsistentes. Assim, se tais resultados forem utilizados em análises filogenéticas, não refletirão as verdadeiras relações entre os táxons. Portanto, trabalhos que visem à utilização taxonômica de dados sobre o desenvolvimento pós-seminal de representantes de Tillandsioideae, devem ser sempre associados aos aspectos morfológicos e anatômicos dos embriões e dos envoltórios das sementes.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pelo suporte técnico; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de Mestrado concedida a primeira autora; à Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, por permitir o uso da Coleção de Bromeliaceae do Jardim Botânico de Porto Alegre; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo apoio financeiro.

Referências

- Benzing, D.H. 2000. **Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Cecchi-Fiordi, A.; Palandri, M.R.; Tani, G. & Di Falco, P. 1996. Cytological aspects of the hypocotyl correlated to the behavior of the embryo radicle of *Tillandsia* atmospheric species. **Caryologia** **49**: 113-124.
- Crayn, D.M.; Winter, K. & Smith, J.A.C. 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. **Proceedings of the National Academy of Sciences** **101**(10): 3703-3708.
- Gabriel, B.L. 1982. **Biological electron microscopy**. New York, Van Nostrand Reinhold Company.
- Gerrits, P.O. & Smid, L. 1983. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy** **132**: 81-85.

- Gersterberger, P. & Leins, P. 1978. Rasterelektronmikroskopische Untersuchungen an Blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae). Anwendung einer neuen Präparationsmethode. **Berichte der Deutsche Botanische Gesellschaft** **91**: 381-387.
- Gross, E. 1988. Bromeliestudien IV. Zur Morphologie der Bromeliaceen-Samen unter Berücksichtigung Systematisch-taxonomischer Aspekte. **Tropische und Subtropische Pflanzenwelt** **64**: 415–625
- Jacobsen, J.V. 1984. The Seed: Germination. In: Johri, B.M. (Ed.), **Embryology of Angiosperms**, p. 611-646. Springer-Verlag, Berlin.
- Jensen, W. A. 1962. **Botanical Histochemistry**: principles and practice. W. H. Freeman, San Francisco.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York, McGraw-Hill.
- Mantovani, A. & Iglesias, R.R. 2005. Quando aparece a primeira escama? Estudo comparativo sobre o surgimento de escamas de absorção em três espécies de bromélias terrestres de restinga. **Rodriguésia** **56**: 73-84.
- McDowell, E.M. & Trump, B.R. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology and Laboratory of Medicine** **1000**: 405-414.
- Morra, L.; Dottori, N. & Cosa, M.T. 2002. Ontogenia y anatomia de semilla y fruto en *Tillandsia tricholepis* (Bromeliaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica** **37**: 193-201.
- Nakamura, A.T.; Longhi-Wagner, H.M. & Scatena, V.L. 2009. Desenvolvimento de óvulo, fruto e semente de espécies de Poaceae (Poales). **Revista Brasileira de Botânica** **32**: 165-176.
- O'Brien, T.P. & McCully, M.E. 1981. **The study of plant structure**: principles and selected methods. Termacarphi Pty, Melbourne.
- Oliveira, D.M.T. 1999. Morfo-anatomia do embrião de leguminosas arbóreas nativas. **Revista Brasileira de Botânica** **22**: 413-427.
- Palací, C.A.; Brown, G.K. & Tuthill, D.E. 2004. The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). **Systematic Botany** **29**: 518-527.
- Pereira, A. R.; Pereira, T.S.; Rodrigues, A.S. & Andrade, A.C.S. 2008. Morfologia de sementes e do desenvolvimento pós-seminal de espécies de Bromeliaceae. **Acta Botanica Brasilica** **22** (4): 1150-1162.
- Pereira, A.R.; Andrade, A.C.S.; Pereira, T.S.; Forzza, R.C. & Rodrigues, A.S. 2009. Comportamento germinativo de espécies epífitas e rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **32** (4): 827-838.
- Szidat, L. 1922. Die Samen der Bromeliaceen in ihrer Anpassung an den Epiphytismus. **Botanisches Archiv** **1**:29–46.
- Scatena, V. L.; Segecin S. & Coan, A.I. 2006. Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the “Campos Gerais”, Paraná, Southern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** **49** (6): 945-951.
- Smith, L.B. & Downs, R.J. 1977. **Tillandsioideae (Bromeliaceae)**. In Flora Neotropica Monograph. Hafner Press, New York, mon. 14, pars. 2, p.663- 1492.
- Stringheta, A.C.O.; Silva, D.J.H.; Cardoso, A.A; Fontes, L.E.F. & Brabosa, J.G. 2005. Germinação de sementes e sobrevivência das plântulas de *Tillandsia geminiflora* Brongn, em diferentes substratos. **Acta Scientiarum. Agronomy** **27** (1): 165-170.
- Southworth, D. 1973. Cytochemical reactivity of pollen walls. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**

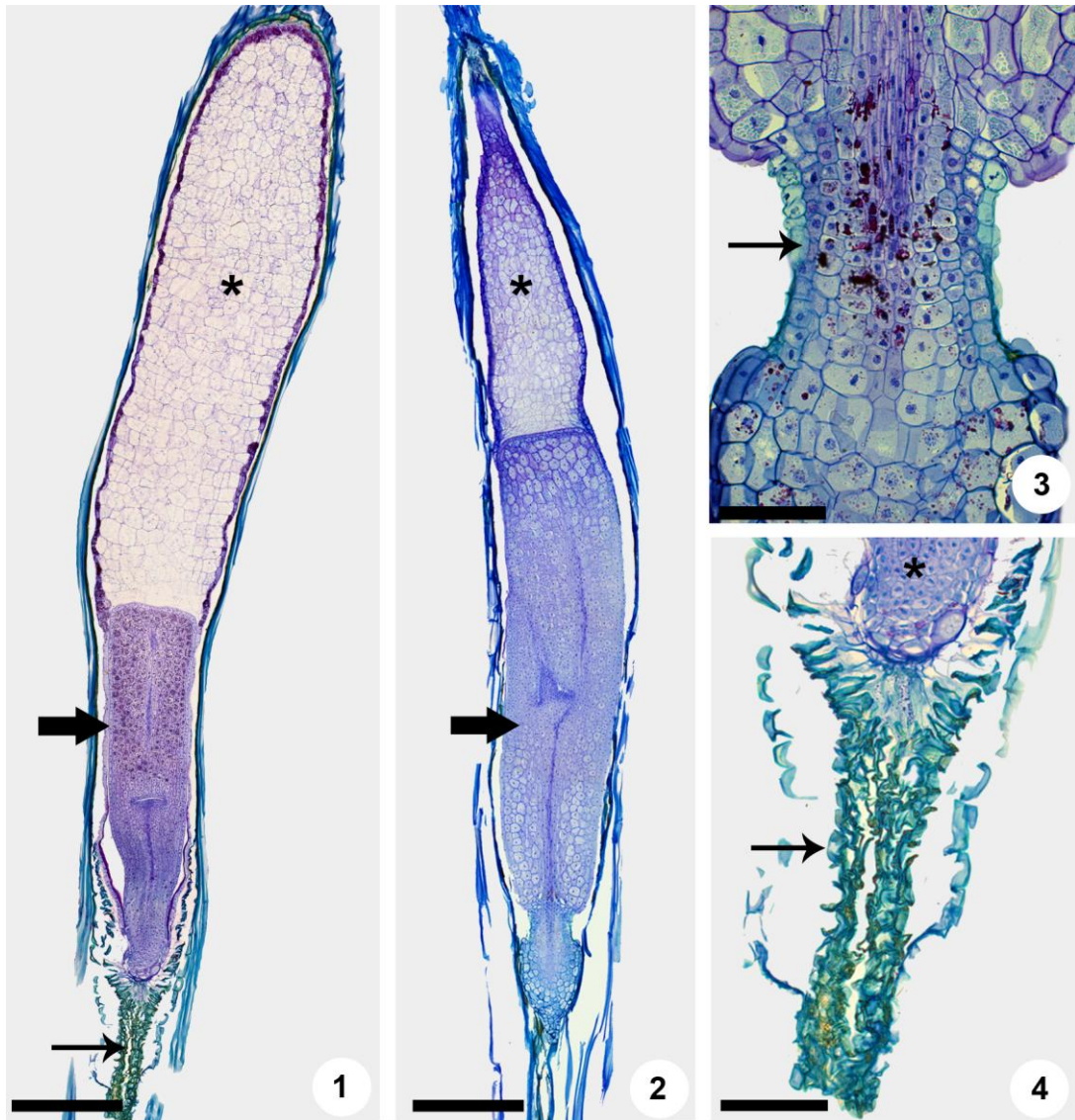
21 (1): 73-80.

Tillich, H.J. 2007. Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (Monocotyledons). **Annals of Botany** **100**: 1413-1429

Zhang, Z.; Hang, D.; Lu, A. & Knapp, A. 2005. Seed morphology of the tribe Hyoscymeae (Solanaceae). **Taxon** **54**(1): 71-83.

Tabela 1. Registro das espécies de *Tillandsia* L. e *Vriesea* Lindl. analisadas.

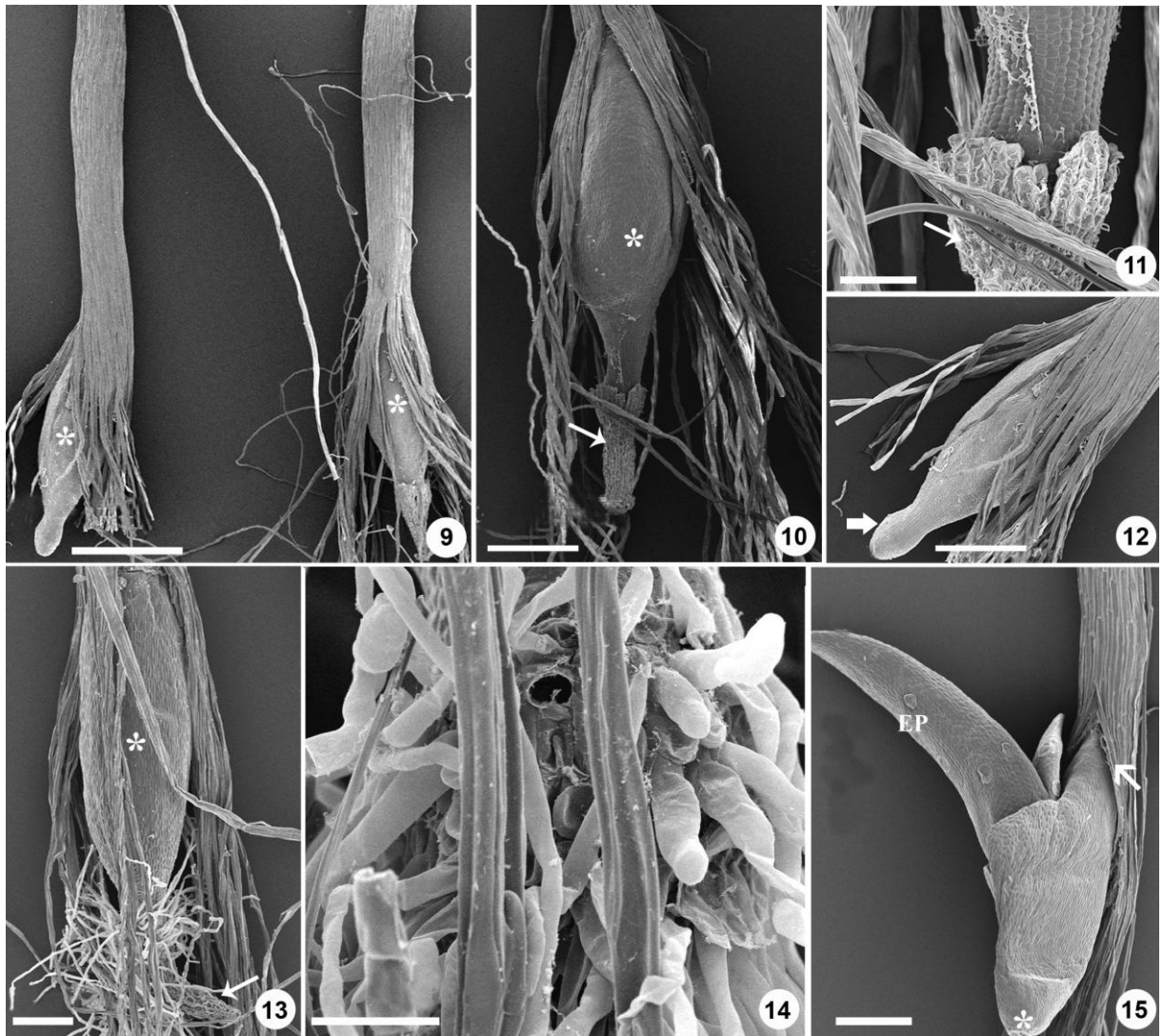
Espécie	Local da Coleta	Registro
<i>T. geminiflora</i> Brogn.	Camaquã, RS	ICN 183676
<i>T. recurvata</i> (L.) L.	Camaquã, RS	BROM00449
<i>V. corcovadensis</i> Mez	Cambará do Sul, RS	BROM00620
<i>V. gigantea</i> Gaudich.	Porto Alegre, RS	ICN 183677
<i>V. incurvata</i> Gaudich.	Maquiné, RS	BROM00090



Figuras 1-4. Anatomia das sementes de *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L. 1. *V. incurvata* Gaudich. Embrião pequeno e endosperma abundante. 2. *T. geminiflora* Brogn. O embrião ocupa mais da metade da semente e o restante é preenchido pelo endosperma. 3. Detalhe da zona de constrição de eixo hipocótilo-radícula. 4. Detalhe do endóstoma. Barras= 500 μ m (Figs. 1-2); 100 μ m (Fig. 4); 50 μ m (Fig. 3).



Figuras 5-8. Comportamento germinativo das sementes de *Tillandsia* L. e *Vriesea* Lindl. 5-7. Semente de *T. recurvata* (L.) L. 5. Aspecto geral da semente (sem o apêndice plumoso basal). 6. Radícula do embrião (seta fina), aos 10 dias da embebição. 7. Radícula do embrião (seta fina), eófilo (seta larga) e cotilédone (*) aos 27 dias de embebição. 8. *V. incurvata* Gaudich. Aspecto das sementes germinadas. Emergência da base do cotilédone (seta larga). Cotilédone no interior das sementes (*). Parte do tégmen aderido ao embrião até a perda da porção radicular (seta fina). Barras = 1cm.



Figuras 9-15. Comportamento germinativo das sementes de *Vriesea* Lindl. 9-12. *V. gigantea* Gaudich. 9. Base do cotilédone aos 7 dias de embebição. 10-11. Tégmen/endóstoma sobre a região radicular. 12. Endóstoma removido para exposição da região radicular. 13-15. *V. incurvata* Gaudich. 13. Base do cotilédone e tricomas radiculares. 14. Detalhe dos tricomas. 15. Cotilédone no interior da semente (seta), ausência de raiz (*) e presença de escamas peltadas (EP). Barras = 1 mm (Fig. 9); 500 µm (Figs. 10, 11, 13, 15); 200 µm (Fig. 12); 50 µm (Fig. 14).

CAPÍTULO IV

Considerações Finais

Inúmeros estudos, em diversas áreas, foram realizados para a família Bromeliaceae. Porém, ainda existem várias questões acerca da sistemática e da filogenia que precisam ser esclarecidas. Assim, este estudo pretendeu ampliar o conhecimento sobre a morfoanatomia da semente de representantes dos gêneros *Tillandsia* e *Vriesea* e, conseqüentemente, da subfamília Tillandsioideae.

Aqui destacamos características dos arranjos estruturais dos apêndices plumosos basais (um “para-quedas” em *Vriesea* e dois em *Tillandsia*), dos embriões, principalmente do eixo hipocótilo-radícula (presença de zona de constrição em *Tillandsia* e ausência em *Vriesea*), dos endospermas (em grande quantidade em vrieseas e com quantidade variável em tillandsias), além dos padrões de germinação com base no comportamento dos envoltórios (afrouxamento de todo o envoltório - em tillandsias; e o rompimento acima do endóstoma - em vrieseas).

De modo geral, as características observadas nos envoltórios, nos embriões, no endosperma e na germinação das sementes corroboram fortemente com a separação dos táxons analisados e devem ser levadas em consideração na delimitação dos gêneros. Além disso, sugerem uma história evolutiva bastante interessante para as tillandsias. O aborto precoce da radícula do embrião pode ser uma característica adaptativa para as espécies do gênero e, pode ter contribuído com a ocupação de novo nichos e, conseqüentemente, com o aumento da sua área de distribuição.

Os resultados indicam que as características observadas nas sementes maduras possuem grande potencial para aplicação em análises filogenéticas. No entanto, devido à escassez de estudos morfológicos e anatômicos sobre as sementes da família, são poucas as informações de como essas características se apresentam em outros gêneros, sendo imprescindíveis estudos de outros táxons, para uma maior compreensão da evolução das estruturas analisadas. Além disso, estudos anatômicos mais aprofundados devem ser realizados com o intuito de investigar se os tegumentos possuem origens diferentes e como, exatamente, ocorre a formação dos apêndices plumosos.

Dentre as características analisadas no estudo, algumas geraram uma série de questionamentos que deveriam ser levados em consideração em trabalhos futuros:

- Que tipos de modificações ocorrem nos tegumentos das sementes que determinam o padrão estrutural observado nos apêndices plumosos (um para-quedas em *Vriesea* e dois para-quedas em *Tillandsia*)?
- O padrão do eixo hipocótilo-radícula das espécies de *Tillandsia* ocorre em todo o

gênero ou haveria um padrão de acordo com a sua área de distribuição?

- Que tipos de modificações anatômicas ocorrem no endosperma e no embrião das sementes durante o processo de germinação?

- Tendo em vista o relato de ocorrência de raiz principal em estudos sobre o comportamento germinativo de sementes de *Vriesea*, seria possível estabelecer padrões germinativos distintivos que possibilitem o agrupamento das espécies desse gênero?