

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

**EMBRIOLOGIA DE *TILLANDSIA AERANTHOS*  
(LOIS.) L. B. SM. (TILLANDSIOIDEAE-  
BROMELIACEAE)**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Cristiele Spat**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2012**

**EMBRIOLOGIA DE *TILLANDSIA AERANTHOS*  
(LOIS.) L. B. SM. (TILLANDSIOIDEAE-BROMELIACEAE)**

**Cristiele Spat**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Agrobiologia**

**Orientador: Prof. Dr. João Marcelo Santos de Oliveira**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2012**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Spat, Cristiele  
EMERIOLOGIA DE TILLANDSIA AERANTHOS (LOIS.) L. B. SM.  
(TILLANDSIOIDEAE-BROMELIACEAE) / Cristiele Spat.-2012.  
101 p.; 30cm

Orientador: João Marcelo Santos de Oliveira  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2012

1. Embricologia 2. Esporogênese 3. Gametogênese 4.  
Antera 5. Rudimento SEminal I. Santos de Oliveira, João  
Marcelo II. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia**

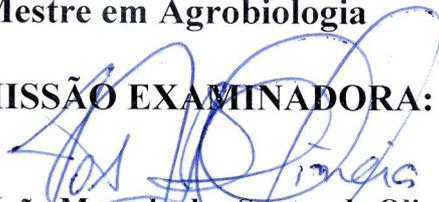
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

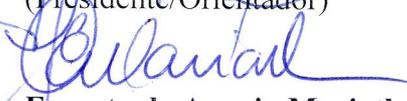
**EMBRIOLOGIA DE *TILLANDSIA AERANTHOS*  
(LOIS.) L. B. SM. (TILLANDSIOIDEAE-BROMELIACEAE)**

elaborada por  
**Cristiele Spat**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Agrobiologia**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

  
Prof. Dr. João Marcelo dos Santos de Oliveira  
(Presidente/Orientador)

  
Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araujo Mariath (UFRGS)

  
Prof. Dr.ª Thais Scotti Do Canto Dorow (UFSM)

Santa Maria, 06 de julho de 2012.

## AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo apoio, incentivo e por compreender as ausências durante esses dois anos.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. João Marcelo Santos de Oliveira, pela amizade e dedicação durante minha formação, os quais foram fundamentais na execução desse trabalho.

Ao Glauber, pelo carinho, apoio e paciência.

À Dr<sup>a</sup>. Jaqueline Sarzi Sartori, pela amizade, dedicação, aprendizado e discussões, sempre valiosas, sobre Bromeliaceae

Ao César Carvalho de Freitas, pela ajuda e disponibilidade na confecção do material botânico, indispensável na execução deste trabalho.

À Marisa Binotto, pela amizade, companherismo e auxílio técnico no laboratório, muito importantes na execução deste estudo.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Botânica Estrutural, Patrícia, Merielen e Mariane, pelo convívio diário, incentivo e discussões acadêmicas, muito importantes para a realização deste trabalho.

Às minhas amigas, Renata, Lara e Letícia, pelos encontros, momentos de descontração e por lembrarem, todos os dias, o valor de uma amizade.

À Prof. Dr<sup>a</sup>. Thais Scotti do Canto-Dorow, pela análise taxonômica e disponibilidade em realizar as coletas.

Ao André, funcionário do Jardim Botânico da UFSM, pela ajuda nas coletas.

À Prof. Miriam Meira, pelo empréstimo do material bibliográfico de Bromeliaceae.

Ao Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araujo Mariath, pela atenção dispensada durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal ó IB/UFRGS pelo auxílio na execução de rotinas laboratoriais para microscopia de fluorescência e microscopia eletrônica de varredura.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, e não estão nominalmente citados. Reitero aqui minhas palavras e o meu MUITO OBRIGADA.

*ãA Natureza permanece com seus encantos e com seu valor, mas é nosso olhar que, se desencantado, se torna mais opaco, mais restrito. Então, reencantar o mundo é na verdade, reencantar nosso olhar.ö (Unger, 2001)*

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia  
Universidade Federal de Santa Maria

### CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA EMBRIOLOGIA EM *TILLANDSIA AERANTHOS* (LOIS.) L. B. SM. (TILLANDSIOIDEAE-BROMELIACEAE)

AUTORA: CRISTIELE SPAT

ORIENTADOR: JOÃO MARCELO SANTOS DE OLIVEIRA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 06 de julho de 2012.

Bromeliaceae possui grande diversidade de espécies na região neotropical, compreendendo cerca de 3140 espécies, sendo 551 do gênero *Tillandsia*. O presente trabalho teve como objetivo descrever o desenvolvimento da antera e do rudimento seminal, além da caracterização da espogênese e gametogênese, com a finalidade de auxiliar na taxonomia e filogenia da família, ainda em fase de mudança. *Tillandsia aeranthis*, apresenta flores com estames em número de seis e ovário súpero, tricarpelar. Na antera, o desenvolvimento dos estratos parietais é do tipo ômistó, formado por epiderme, endotécio, camada média e tapete. A epiderme é papilada e o tapete é do tipo secretor. A microsporogênese é sucessiva com clivagem do tipo centrífuga, onde são formadas tétrades isobilaterais e decussadas. Após a liberação do andrósporo da tétrade, ocorre a primeira divisão do grão de pólen e é precedida por vacuolação. Após mitose, é formada a célula generativa e a célula vegetativa, separadas por uma parede de calose. O andrófito é liberado bicelular. O rudimento seminal de *Tillandsia aeranthis* é anátropo, bitegumentado e crassinucelado, com placentação axial. O rudimento seminal tem origem na camada subdérmica da placenta. Os tegumentos são de origem dérmica. A inicial arqueosporial dá origem à célula mãe de ginósporo (CMG). A CMG sofre o primeiro ciclo meiótico que origina uma díade de ginósporo com presença de calose ao redor. O segundo ciclo meiótico dá origem a tétrade linear de ginósporo, tornando-se o ginósporo calazal funcional. O ginósporo funcional diferencia-se em um gametófito uninucleado que após mitoses origina um gametófito bi e tetranucleado. Esse tipo de desenvolvimento do ginófito é do tipo monospórico e *Polygonum*, onde o ginófito apresenta sete células e oito núcleos, com a presença de duas sinérgides, uma oosfera, formando o aparelho oosférico e três antípodas. Os núcleos polares de fusionam antes da fecundação.

**Palavras-chave:** antera, androsporogênese, andrófito, ginófito, embriologia.

## ABSTRACT

Master Course Dissertation  
Programa de Pós-graduação em Agrobiologia  
Universidade Federal de Santa Maria

### STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF EMBRYOLOGY IN *TILLANDSIA AERANTHOS* (LOIS.) L. B. SM. (TILLANDSIOIDEAE-BROMELIACEAE)

AUTHOR: CRISTIELE SPAT

ADVISER: JOÃO MARCELO SANTOS DE OLIVEIRA

Defense Place and Date: Santa Maria, July 06<sup>nd</sup>, 2012.

Bromeliaceae owns a huge diversity of species in the Neotropical region, comprising about 3140 species, in which 551 consist of the genus *Tillandsia*. The article aims the description, of the anther development and ovule as the esporogenesis and gametogenesis characterization as well, in order to make easier both the taxonomy and phylogeny of the family, which is still in process of change. *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm. contains six stamens flowers; superior, tricarpellate and trilocular ovary. The pattern of development of the anther wall is characterized as mixed-type. Androsporangium is formed by epidermis, middle layers, endothecium and tapetum. The tapetum is the secretor-type. Meiosis is the successive-type with cleavage of the centrifugal type. The tetrads formed are decussate or isobilateral. The first division of the pollen is preceded by vacuolation, it is assymmetric and produce both generative and vegetative cells. The two cells formed are separated by a callose wall. The mature grain pollen is bicellular. The ovule of *Tillandsia aeranthos* is anatropus, bitegmic and crassinucellate, with axial placentation. The ovule originates in the subdermal layer (zone II) of the placentae. The integument nucellar epidermis is originated by divisions in the dermal layers. One to three ginospore mother celss, which are originated by divisions in archesporial cell, undergo meiotic divisions development a linear tetrad, with presence callosic wall. Only the chalazal ginospore becomes functional. The functional ginospore differs in that a gametophyte uninucleate after mitosis and yields a two-nucleate and four-nucleate gametophyte. The female gametophyte has a monosporic origin and a *Polygonum*-type development. The female gametophyte consists of two synergids, an egg cell, three antipodes and two polar nuclei. Polar nuclei fuse prior to fertilization.

Keywords: anther, androsporogenesis, grain pollen, female gametophyte, embryology.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	09
<b>1.OBJETIVO GERAL</b> .....	10
<b>1.1 Objetivos Específicos</b> .....	10
<b>2. BROMELIACEAE</b> .....	11
<b>2.1 Aspectos Ecológicos</b> .....	11
<b>2.2 Aspectos Reprodutivos</b> .....	13
<b>2.3 Aspectos Ecológicos</b> .....	13
<b>3. TILLANDSIOIDEAE</b> .....	14
<b>3.1 <i>Tillandsia aeranthos</i> (Lois.) L. B. Sm.</b> .....	14
<b>4. EMBRIOLOGIA NA FAMÍLIA E NO GÊNERO/ESPÉCIE</b> .....	15
<b>ARTIGO 1 - DESENVOLVIMENTO DA ANTERA, ANDROSPOROGÊNESE E ANDROGAMETOGÊNESE EM <i>TILLANDSIA AERANTHOS</i> (LOIS.) L. B. SM (TILLANDSIOIDEAE - BROMELIACEAE)</b> .....	18
<b>Resumo</b> .....	20
<b>Abstract</b> .....	20
<b>Introdução</b> .....	21
<b>Material e métodos</b> .....	23
<b>Resultados e discussão</b> .....	25
<b>Referências bibliográficas</b> .....	39
<b>Anexos</b> .....	51
<b>ARTIGO 2 - ONTOGENIA DO RUDIMENTO SEMINAL EM <i>TILLANDSIA AERANTHOS</i> (LOIS.) L. B. SM. (TILLANDSIOIDEAE-BROMELIACEAE)</b> .....	58
<b>Resumo</b> .....	60
<b>Abstract</b> .....	60
<b>Introdução</b> .....	61
<b>Material e métodos</b> .....	62
<b>Resultados e discussão</b> .....	64
<b>Referências bibliográficas</b> .....	77
<b>Anexos</b> .....	87
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	92
<b>CONCLUSÃO</b> .....	93
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	94

## INTRODUÇÃO

Bromeliaceae é uma família de grande diversidade da região neotropical, ocupando uma variedade de habitats, desde ambientes montanhosos até a mata atlântica, compreendendo comportamento terrestre e epífita.

As bromélias apresentam folhas alternas e espiraladas, em geral formando uma roseta basal em forma de cisterna que acumula água e matéria orgânica criando um meio favorável a manutenção de fauna própria (Tomlinson 1969). Esta família é muito conhecida pelo seu grande potencial ornamental. Além de seu uso ornamental, muitas espécies são utilizadas pelo homem como fonte de fibra para manufaturas, na medicina e na alimentação.

As populações naturais de bromélias, de maneira geral, vêm sendo destruídas e ameaçadas, estando várias espécies presentes na lista vermelha publicada pelo IUCN (The World Conservation Union - [www.iucnredlist.org/](http://www.iucnredlist.org/)), a qual a *Tillandsia aeranthos* está incluída. Dois motivos principais estão envolvidos na ameaça às espécies de Bromeliaceae: o extrativismo ilegal das plantas e a destruição e fragmentação de seu habitat. A Mata Atlântica, a qual constitui um dos principais centros de diversidade da família, é um dos biomas com maiores índices de destruição do planeta (Heringer & Montenegro, 2000), ocorrendo a fragmentação das populações.

Esse contexto gera o declínio, em populações naturais, de grande parte do seu material genético. Assim, informações sobre o desenvolvimento embriológico do pólen e da antera permitem a melhor caracterização das espécies com aplicação tanto em taxonomia quanto em programas de conservação.

Os caracteres reprodutivos são mais estáveis que os caracteres vegetativos e propiciam maior confiabilidade às relações filogenéticas, as quais se encontram ainda em fase de mudanças na família Bromeliaceae. De maneira geral, os estudos anatômicos envolvendo órgãos reprodutivos em plantas são realizados em algumas espécies apenas, cujos resultados permitem apenas generalizações sobre processos embriológicos nos grupos taxonômicos considerados. Associado ao usual reduzido número de trabalhos embriológicos, se observa que tais trabalhos não contemplam todos os aspectos da esporogênese e/ou gametogênese e, principalmente, não contemplam a formação inicial dos esporângios a partir dos meristemas florais. Tal contexto se aplica a Bromeliaceae, assim, são necessários esforços para estudos sobre aspectos estruturais dos processos reprodutivos, os quais podem apresentar aplicações diversas como refinamento da circunscrição taxonômica e/ou filogenética ou ainda ser

utilizados em estratégias de conservação com a aplicação de tais resultados na propagação clonal com a intenção de oferta de mudas comerciais, minimizando o impacto predatório sofrido por espécies vegetais notoriamente ornamentais, típicas em Bromeliaceae, e/ou medicinais.

Portanto, o presente estudo faz parte do esforço de produção de conhecimento estrutural sobre a ontogênese do androsporângio e do ginosporângio, androsporogênese e ginosporogênese, androgametogênese e ginogametogênese em *Tillandsia aeranthos*. Foram abordados aspectos da embriologia na espécie, visto que esses dados ainda não foram extensivamente abordados na família, podendo, portanto revelar aspectos importantes sobre o desenvolvimento das espécies pertencente a família Bromeliaceae.

## **1. OBJETIVO GERAL**

Descrever a ontogenia da antera e do rudimento seminal de *Tillandsia aeranthos*.

### **1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Distinguir o padrão de formação dos estratos parietais das anteras;
- Explicar a formação inicial do rudimento seminal a partir da placenta,
- Reconhecer citologicamente os estratos parietais das anteras ao longo do desenvolvimento;
- Descrever o padrão de formação dos andrósporos e ginósporos;
- Caracterizar a esporoderme;
- Caracterizar o andrófito e o ginófito;

## 2. BROMELIACEAE

### 2.1 ASPECTOS TAXONÔMICOS

Bromeliaceae contempla, atualmente, cerca de 3400 espécies distribuídas em 58 gêneros (Givnish et al., 2011). Sua distribuição geográfica é tipicamente neotropical (Smith & Downs, 1974), com exceção da espécie *Pitcairnia feliciana* (A. Chev.) Harms & Mildbr (Jacques-Felix, 2000), nativa do oeste da África.

As espécies de Bromeliaceae são encontradas em uma grande variedade de habitats. As mesófitas prevalecem em ambientes com alta umidade, como em florestas tropicais, enquanto as xerófitas com metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) são capazes de habitar ambientes secos, como em savanas, campos rupestres, ambientes desérticos e mesmo sobre rochas nuas (Linder & Rudall, 2005).

Atualmente, segundo APG III (2009), Bromeliaceae, juntamente com outras 16 famílias, pertencem à Poales. A monofilia de Poales é bem sustentada por caracteres moleculares (Linder & Rudall, 2005). A ordem Poales compreende 7% de todas as Angiospermas e 33% das monocotiledôneas, incluindo táxons importantes economicamente e ecologicamente (Givnish et al., 2010). Bromeliaceae, ocupa uma posição basal em relação às demais famílias, representando, assim um clado de divergência precoce dentro da ordem (Linder & Rudall, 2005, Givnish. et al. 2010).

Os estudos filogenéticos sustentam a monofilia de Bromeliaceae (Barfuss et al., 2005, Givnish et al., 20011). Tradicionalmente são reconhecidas três subfamílias de Bromeliaceae: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae (Smith & Downs, 1974), separada pela morfologia das flores, dos frutos e das sementes. Bromelioideae apresenta ovário ínfero, frutos bactáceos e sementes ditas nuas; Pitcairnioideae apresenta sementes aladas (ou raramente nuas), fruto capsular deiscente e ovário súpero; Tillandsioideae apresenta ovário súpero e sementes possuidoras de apêndices plumosos (Smith & Downs, 1974, 1977, 1979).

Por estudos moleculares o número de subfamílias foi ampliado para oito, sendo essa uma classificação mais natural: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae (Givnish et al., 2007). O trabalho de Givnish et al., (2007) confirmou a monofilia de Tillandsioideae e Bromelioideae e resolveu a parafilia de Pitcairnioideae com a proposição de cinco novas

subfamílias a partir da mesma. Em recentes estudos moleculares, estas oito subfamílias estão bem suportadas, sendo ainda sugerido por estes autores o abandono da classificação tradicional em três subfamílias. As subfamílias que ocorrem naturalmente no Brasil são Tillandsioideae, Bromelioideae e Pitcairnioideae (Smith & Downs 1974, 1977, 1979; Haussen, 1992).

As subfamílias Tillandsioideae e Bromelioideae apresentam problemas de circunscrição de gêneros e espécies (Smith & Downs 1977, 1979; Barfuss et al., 2005). Apesar da importante contribuição de diversos autores à sistemática dessas duas subfamílias (Terry et al., 1997a,b; Horres et al., 2000; Barfuss et al.; 2005), as relações sistemáticas ainda permanecem muito artificiais dentro da família. Mesmo após alguns avanços na classificação das subfamílias de Bromeliaceae resultando na formação de agrupamentos naturais, a delimitação de gêneros tem sido bastante discutida (Givnish et al.; 2011), incluindo *Tillandsia*, que representa um gênero parafilético. Assim, a persistência desses problemas taxonômicos e sistemáticos demonstra necessidade de continuar os trabalhos filogenéticos e investir na busca por novas abordagens, como trabalhos em morfologia comparada, para estabelecimento dessas relações.

## 2.2 ASPECTOS REPRODUTIVOS

Na família ocorre a combinação de dois modos de reprodução, um por via de produção de sementes e outro por propagação clonal (Benzing, 2000). No processo reprodutivo através de sementes, há o processo que envolve a fusão de gametas. A propagação clonal pode ser suficiente para manter o crescimento da população, quando o outro modo se torna ausente, sendo esta uma importante estratégia para a disseminação das espécies (Vosgueritchian & Buzato, 2006). A maioria das espécies de Bromeliaceae possui flores completas, porém ocorre dioicéia (Benzing, et al., 2000; Forzza, 2001) e a andromonoicéia (Ramírez, 2001).

Muitas espécies possuem atrativos para os polinizadores (Vosgueritchian & Buzato, 2006), sendo as inflorescências um desses atrativos. As bromélias apresentam uma grande diversidade de tipos de inflorescências, podendo ser simples ou compostas, geralmente indeterminadas, com presença de brácteas coloridas e vistosas (Benzing, 2000). As flores apresentam perianto heteroclamídeo, trímero, sendo as peças florais livres entre si ou fusionadas de diferentes formas. No androceu, os estames são em número de seis, com os

filetes livres ou fusionados entre si ou epipétalos. O gineceu é tricarpelar e ovários súperos, exceto Bromelioideae que possui ovário ínfero. Os frutos são do tipo cápsula ou baga, exclusivo de Bromelioideae. As sementes podem ser nuas, aladas ou plumosas (Smith & Downs, 1974, 1677, 1979; Reitz, 1983).

### 2.3 ASPECTOS ECOLÓGICOS

As espécies de Bromeliaceae apresentam folhas simples alternas ou espiraladas com entrenós extremamente curtos, apresentando aspecto de roseta; o contexto que envolve a morfologia foliar, filotaxia e estrutura caulinar permite que tais indivíduos acumulem água, a semelhança de uma cisterna, também usualmente definida como um tanque. Além da água, matéria orgânica e inorgânica se acumulam na cisterna criando um micro-hábitat para uma fauna variada (Tomlinson, 1969, Reitz, 1983). Tal fato torna as bromélias componentes importantes nos ecossistemas tropicais e subtropicais.

As bromélias apresentam uma tolerância excepcional para ambientes com restrição hídrica e uma capacidade para desenvolver-se em substratos pobres em nutrientes, possuindo várias características que configuram essa adaptação. Uma das características estruturais é definida pela formação da cisterna, promovendo parte da tolerância ao estresse. O metabolismo CAM, presente em espécies de bromeliáceas, comum em espécies terrestres e epifíticas, promove a economia de água, o que ajuda muitas populações a sobreviver em secas sazonais (Benzing, 1974; Crayn et al., 2000). Esse tipo de metabolismo faz com que a perda de água por transpiração seja reduzida, pois absorve CO<sub>2</sub> à noite, sendo essa uma eficiente estratégia dessas plantas para o uso da água, uma vantagem adaptativa em ambientes secos (Quezada, 2011).

As folhas das bromélias, inclusive de Tillandsioideae, apresentam escamas peltadas que tem a função de absorção de água e nutrientes, característica muito importante na família (Tomlinson, 1969; Benzing, 1980). Além de reduzir a transpiração e a fotoinjúria, serve como barreira para predadores e patógenos, além de atração para polinizadores (Benzing, 2000). A raiz, nesse contexto, é responsável pela fixação do indivíduo em uma dada superfície.

### 3. TILLANDSIOIDEAE

Tillandsioideae é a maior subfamília com, aproximadamente, 1100 espécies distribuídas em nove gêneros: *Alcantarea* (16 spp.), *Catopsis* (21 spp.), *Pitcairnia* (2 spp.), *Guzmania* (176 spp.), *Mezobromelia* (9 spp.), *Racinaea* (56 spp.), *Tillandsia* (551 spp.), *Vriesea* (188 spp.) e *Werauhia* (73 spp.) (Till, 2000).

Essa subfamília compreende ervas rosuladas caracterizadas por tricomas peltados dispostos na margem da folha, presença de ovário súpero e frutos do tipo cápsulas que contém sementes com apêndices plumosos (Till, 2000). As flores de Tillandsioideae são sempre trímeras, pentacíclicas e heteroclamídeas, com desenvolvimento acrópeto na inflorescência (Till, 2000). A dispersão dos frutos é feita pelo vento na maioria de espécies de Tillandsioideae (Mondragon et al., 2006). As inflorescências raramente são sésseis (Till, 2000) e compreendem desde as mais simples até as mais complexas inflorescências em Bromeliaceae, onde se pode encontrar redução a uma única flor, característica exclusiva em *Tillandsia* (Benzing, 2000).

Este gênero inclui cerca de 550 espécies de arquitetura altamente variável, com indivíduos variando de 1m de altura a pequenos epífitos de cerca de 3 cm de altura (Till, 2000).

As espécies são encontradas em toda área de distribuição de Bromeliaceae e *Tillandsia* é o responsável pela grande amplitude geográfica desta família (Benzing, 2000). Algumas espécies que possuem modo de reprodução autogâmico contribuíram com a formação e manutenção de pequenas populações, permitindo, segundo Benzing et al., (2000), a ampla distribuição, ajudando este gênero atingir seu atual estado no na América do Sul. Dois são os principais centros de diversidade de Tillandsioideae, sendo eles o norte dos Andes e as Antilhas. Além de centros secundários de riqueza de espécies localizado na América Central e sudeste do Brasil (Till, 2000).

#### 3.2 *TILLANDSIA AERANTHOS* (LOIS.) L. B. SM.

É uma espécie epífita, com folhas espiraladas em grande número que cobrem o caule, as quais se desenvolvem espiraladas ao longo do mesmo. A inflorescência apresenta de 5-20

flores, com brácteas róseas ou purpureas, sépalas róseas ou avermelhadas e pétalas violáceas. Estames em número de seis (três menores e três maiores), anteras amarelas, lineares e basifixas. Os andrófitos são elíptico, sulcados e reticulados (Reitz, 1983). O ovário é súpero, tricarpelar e trilocular. A estrutura caulinar, filotaxia e morfologia foliar, como já descritos anteriormente, permitem aos indivíduos sobreviver em ambientes secos, pois possibilitam a absorção de água e nutrientes (Tomlinson, 1969, Benzing, 1980). Os dados fenológicos indicam que a floração ocorre de julho a dezembro (Reitz, 1983).

#### **4. EMBRIOLOGIA NA FAMÍLIA E NO GÊNERO/ESPÉCIE**

Bromeliaceae tem sido bastante descrita em relação a anatomia vegetativa, principalmente anatomia foliar, podendo ser citados trabalhos de Tomlinson (1969), Pita & Menezes (2002), Arruda & Costa (2003), Aoyama & Sajo (2003), Segecin & Scatena (2004), Proença & Sajo (2004), Sousa et al. (2005), Scatena & Segecin (2005), Proença & Sajo (2007), Proença & Sajo (2008) e Dettke & Millaneze-Gutierrez (2008). Estudos abordando a morfologia das escamas peltadas, presentes nas folhas de espécies de Bromeliaceae, também foram feitos, como os de Strehl (1983), Varadarajan & Gilmartin (1987) e Mantovani & Iglesias (2005).

Porém, em relação à morfologia e anatomia dos órgãos reprodutivos da família, poucos estudos foram realizados. Em relação ao androceu, são poucos os trabalhos relevantes que descrevem a ontogenia dos estratos parietais, a androsporogênese e a androgametogênese. Dentre estes, podemos dar maior destaque para estudos sobre a androsporogênese (Lakshmanan, 1967, Rao & Wee, 1979) e sobre a andro- e ginogametogênese (Conceição 2005, Sartori, 2008). Podemos citar ainda estudos sobre a morfologia do andrófito de vários táxons (Erdtman & Pragłowski, 1974; Zavada, 1983; Halbritter 1992; Sousa, 1997; Moreira et al., 2005). Estudos sobre a viabilidade polínica também foram realizados dentro da família, como os trabalhos de Wendt et al. (2001) e Vervaeke et al. (2004), além de estudo sobre a formação do tubo polínico (Vervaeke et al. 2005) e sobre a fertilidade (Vervaeke, 2002; Paggi et al., 2007). Além destes, vale ressaltar o de Sajo et al. (2005) que abrange características da androsporogênese e androgametogênese de várias espécies de Bromeliaceae. No entanto, tratando do detalhamento da esporoderme, a comparação dos estratos de parede do andrófito e os aspectos da citologia em desenvolvimento ainda são escassos.

Cabe salientar, os estudos relativos aos aspectos de desenvolvimento da antera no gênero *Tillandsia*, podendo ser citado o estudo sobre a ultraestrutura das organelas durante a androsporogênese em *Tillandsia pallidoflavens* (Hess, 1991), sobre mudanças ultraestruturais ocorridas na unidade germinativa de *Tillandsia caput-medusa* (Brighigna et al., 1981) e o desenvolvimento do andrófito em *Tillandsia seleriana* (Eva et al., 2006). Além disso, merece destaque os estudos sobre a ultraestrutura do tapete em *Tillandsia albina* (Brighigna & Papini, 1993).

Segundo Barfuss et al. (2005) sementes, nectários e rudimentos seminiais propiciam dados comparativos dentro de Tillandsioideae. Além disso, o estudo do desenvolvimento do rudimento seminal pode indicar potenciais sinapomorfias entre táxons. Investigações sobre estes aspectos são escassas dentro desta família.

Em se tratando da anatomia do rudimento seminal, poucos são os trabalhos que abordam a família e o gênero, podendo ser citados os trabalhos de Papini et al. (2010), que fizeram um estudo sobre a morte celular programa dos ginósporos durante a esporogênese em *Tillandsia aeranthos*, e sobre a morte celular programada nas células do nucelo de *Tillandsia meridionalis* e *T. ixioides* (Brighigna et al., 2006). Além desse, foram realizados estudos com várias espécies de Bromeliaceae sobre o desenvolvimento do rudimento seminal (Sajo et al. 2004a). Mais recentemente, pesquisa sobre o desenvolvimento do fruto com espécies representantes das três tradicionais subfamílias, incluindo *Tillandsia aeranthos*, foi realizado no intuito de subsidiar novos estudos a partir de caracteres importantes do desenvolvimento do fruto e deicência de Bromeliaceae (Fagundes & Mariath, 2010).

Outros, com enfoque filogenético e taxonômico, destacam-se os estudos sobre nectários septais (Sajo et al., 2004b), sobre os tipos de estigmas (Brown & Gilmartin, 1984, 1989) e apêndices petalares (Brown & Terry, 1992). Muitos foram os trabalhos que contribuíram para a sistemática das subfamílias, como os de Terry et al. (1997), Horres et al. (2000), Barfus et al. (2004), além dos que abordam aspectos anatômicos e a filogenia de Bromeliaceae e suas relações com as monocotiledôneas (Gilmartin & Brown, 1987) e com as Poales (Linder & Rudall, 2005, Givnish et al., 2010).

Trabalhos que merecem destaque, por abordarem aspectos anatômicos são os apresentados por Billings (1904), que caracterizou o desenvolvimento do ginófito, fecundação e semente em *Tillandsia usneoides*, por Birge (1911) que descreveu o ginófito, semente e germinação de *Tillandsia recurvata* e por Sajo et al. (2004b) que analisaram os nectários septais, morfologia dos estigmas e apêndices petalares em seis espécies representantes das três

subfamílias, incluindo *Tillandsia*. Neste ultimo estudo, os autores estabeleceram relações sistemáticas usando tais características.

Deve-se considerar que o grande número de caracteres diagnósticos facilita o estudo de comparação embriológica e são significantes para considerações taxonômicas (Davis, 1966). A análise comparada de grande número de caracteres embriológicos facilita o estudo com ênfase taxonômica, além de tornar evidente quais são diagnósticos para um dado táxon. Nesse contexto e conforme vem sendo abordado até então, torna o estudo dos aspectos embriológicos em Bromeliaceae muito relevante, considerando que poucos são os trabalhos desenvolvidos até o presente momento. A contribuição da embriologia para a sistemática é considerado muito significante e várias são as características embriológicas (caracteres) que têm sido tradicionalmente, e muito freqüentemente, aplicados em problemas taxonômicos. Dentre eles, aspectos do desenvolvimento da antera, do andrófito e do ginófito são utilizados. Vários autores contribuíram nesse sentido, podendo ser citados obras como Davis (1996), Palser (1975), Johri et al. (1992) e Dahlgren et al.(1985).

**ARTIGO I****DESENVOLVIMENTO DA ANTERA, ANDROSPOROGÊNESE E  
ANDROGAMETOGÊNESE EM *TILLANDSIA AERANTHOS* (LOIS.) L. B. SM.  
(TILLANDSIOIDEAE-BROMELIACEAE)**

**(Artigo foi redigido de acordo com as normas para autores do periódico “Acta  
Botânica Brasílica”)**

**Desenvolvimento da antera, Androsporogênese e Androgametogênese em  
*Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm (Tillandsioideae-Bromeliaceae)**

Cristiele Spat<sup>1</sup>, João Marcelo Santos de Oliveira<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup>, Aluna do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia. Laboratório de Botânica Estrutural, Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima, nº1000, Prédio 16, sala 3123, 97105-900, Santa Maria, RS.

<sup>2</sup> Autor para correspondência: crispat6@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Professor Adjunto. Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, UFSM.

**Resumo** – Desenvolvimento da antera, androsporogênese e androgametogênese em *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm. (Tillandsioideae-Bromeliaceae). *Tillandsia aeranthos* apresenta flores com estames em número de seis, os quais apresentam filete e antera. O padrão de desenvolvimento dos estratos esporangiais foi caracterizado como do tipo misto. Os estratos parietais no esporângio são epiderme, endotécio, camada média e tapete. Células tapetais com até três núcleos foram observadas. O tapete é do tipo secretor. A meiose é sucessiva com clivagem do tipo centrífuga. As tétrades formadas são decussadas ou isobilaterais. Após, há liberação dos andrósporos no fluido locular, que se expandem simultaneamente ao desenvolvimento da exina. A primeira divisão para formação do andrófito é precedida por polarização do núcleo através de vacuolação. A primeira divisão do pólen é assimétrica e ocorre na zona equatorial oposta à abertura do pólen, formando a célula generativa lenticular, e a célula vegetativa. As duas células formadas estão separadas por uma parede calósica. Durante a gametogênese ocorre o início do depósito da intina, a qual é mais espessa na região da abertura. O andrófito é liberado bicelular e sem grãos de amido.

Palavras-chave: androsporogênese, androgametogênese, esporângio, tétrade, andrófito.

**Abstract** - Anther ontogeny, androsporogenesis and androgametogenesis in *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm. (Tillandsioideae-Bromeliaceae). *Tillandsia aeranthos* presents flowers with stamens six, which presents filament and anther. The developmental pattern of the sporangial layers was characterized as mixed. The parietal layers in the sporangium are epidermis, endothecium, middle layers and tapetum. Tapetal cells with up to three nuclei were observed. The tapetum is secretory. Meiosis is successive with cleavage of the centrifugal type. The tetrads formed are decussate or isobilateral. Thereafter, occurs androspore release to the locular fluid, and then the androspores expands during exine development. The first pollen mitosis were preceded of nucleus polarization by vacuole formation. The first division of the pollen is asymmetric and occurs in the equatorial zone opposite the aperture of the pollen forming the generative, initially with a lens shape, and the vegetative cells. The two cells formed are separated by a callosic wall. During gametogenesis the intine develop itself, being ticker in the aperture region. The androphyte is released bicellular and without starch grains.

Keywords: androsporogenesis, androgametogenesis, sporangia, tetrad, androphyte.

## Introdução

Bromeliaceae possui, atualmente, cerca de 3400 espécies distribuídas em 58 gêneros (Givnish *et al.* 2011). Sua distribuição geográfica é tipicamente neotropical (Smith & Downs 1974), com exceção da espécie *Pitcairnia feliciana* (A. Chev.) Harms & Mildbr, nativa do oeste da África (Jacques-Félix 2000).

Atualmente, segundo o APG III (2009), Bromeliaceae pertence à Poales, sendo grupo irmã das demais famílias (Givnish. *et al.* 2010). Embora a monofilia de Poales seja bem sustentada (Horres *et al.* 2000, Barfuss *et al.* 2005, Givnish *et al.* 2011), a origem e as relações filogenéticas ainda se encontram em fase de mudanças. Além disso, delimitações de gênero e espécie ainda está sendo bastante discutido pelos autores (Givnish *et al.* 2011).

Tradicionalmente eram reconhecidas três subfamílias de Bromeliaceae: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae (Smith & Downs 1974). Porém, por recentes estudos moleculares e por representar uma classificação mais natural, o número de subfamílias foi ampliado para oito: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae (Givnish *et al.* 2007). Esse arranjo proposto confirmou a monofilia das subfamílias Tillandsioideae e Bromelioideae e resolveu a parafilia de Pitcairnioideae com a proposição das cinco novas subfamílias. Em recente estudo sobre filogenia de Bromeliaceae, Givnish *et al.* (2011) sugere que seja abandonado o uso das três tradicionais subfamílias, porém, no Brasil, as subfamílias que ocorrem naturalmente são Tillandsioideae, Bromelioideae e Pitcairnioideae (Smith & Downs 1974, 1977, 1979; Haussen 1992).

Tillandsioideae é a maior com aproximadamente 1100 espécies dividido em nove gêneros, sendo que o gênero *Tillandsia* L. compreende o maior número de espécies (Barfuss *et al.* 2005). As espécies desta subfamília são encontradas em toda área de distribuição de Bromeliaceae e o gênero *Tillandsia* é o responsável pela grande amplitude geográfica desta família (Benzing 2000). Inclui bromélias epífitas, adaptadas a ambientes secos e possui forma de crescimento altamente especializada para esse ambiente, com escamas epidérmicas foliares que são capazes de absorver água e nutrientes (Tomlinson 1969; Benzing 1978; Benzing 1980) e tendo a raiz com a função principal de fixação. Segundo Brighigna & Victoria (1990), as escamas que possibilitaram a adaptação das bromeliáceas ao hábitat epífito.

Estudos embriológicos têm sido utilizados para resolver problemas taxonômicos e filogenéticos dentro da família, porém, ainda são escassos. Em relação ao androceu de Bromeliaceae, são poucos os trabalhos relevantes que descrevem a ontogenia dos estratos

parietais, a androsporogênese e a androgametogênese. Dentre estes trabalhos, podemos dar maior destaque para estudos sobre a androsporogênese de *Lindmania pedunculiflora* (Lakshmanan 1967) e de *Ananas comosus* (Rao & Wee 1979), sobre a androsporogênese e androgametogênese em *Dyckia pseudococcinea* (Conceição 2005) e de *Aechmea recurvata* (Sartori 2008). Podemos citar ainda estudos sobre a morfologia do andrófito de vários táxons (Erdtman & Pragłowski 1974, Halbritter 1992, Zavada 1983, Halbritter & Hesse 1993, Moreira *et al.* 2005). Estudos sobre a viabilidade polínica também foram realizados dentro da família, podendo ser citados os trabalhos de Wendt *et al.* (2001), além de estudo sobre a formação do tubo polínico em *Aechmea fasciata* (Vervaeke *et al.* 2002, 2005) e sobre a fertilidade de *Vriesea gigantea* (Paggi *et al.* 2007, Palma-Silva 2007).

Além destes estudos, vale ressaltar os que abrangem características da androsporogênese e androgametogênese de várias espécies de Bromeliaceae, como o de Sajo *et al.* (2005).

Estudos que registram o número cromossômico também foram realizados em Bromeliaceae, podendo ser citados os trabalhos de Lindschau (1933), Weiss (1965), Gauthé (1965), Palma-Silva *et al.* (2004), Louzada *et al.* (2010), e além destes, foram realizados estudos de citogenética em espécies de *Vriesea* e *Aechmea*, a qual foi utilizado célula-mãe de pólen para contagem dos cromossomos (Palma-Silva 2004), e estudos sobre a viabilidade do pólen em espécies de Bromeliaceae (Palma-Silva *et al.* 2008).

*Tillandsia aeranthos*, a espécie aqui analisada, pertencente à Tillandsioideae, apresenta forma de vida epifítica. Adaptada a ambientes secos ela possui uma forma de crescimento altamente especializada, com escamas epidérmicas foliares que são capazes de absorver água e nutrientes (Tomlinson 1969; Benzing 1978).

Cabe salientar, que poucos são os estudos sobre aspectos de desenvolvimento da antera no gênero, podendo ser citado o estudo sobre a ultraestrutura das organelas durante a androsporogênese em *Tillandsia pallidoflavens* (Hess 1991), sobre mudanças ultraestruturais ocorridas na unidade germinativa de *Tillandsia caput-medusa* (Brighigna *et al.* 1980, 1981) e o desenvolvimento do andrófito em *Tillandsia seleriana* (Eva *et al.* 2006). Além disso, merece destaque os estudos sobre a ultraestrutura do tapete em *Tillandsia albina* (Brighigna & Papini 1993).

O desenvolvimento do pólen envolve vários eventos, como divisão e diferenciação celular e vários tipos de células contribuem para a maturação do andrófito (Scott *et al.* 2004). Os esporângios são formados por estratos parietais como epiderme, endotécio, camada média e tapete (Davis 1966, Batygina 2002) que envolvem o tecido esporogênico. Uma

característica que possui valor taxonômico é o desenvolvimento dos estratos parietais, onde Davis (1966) classifica quatro tipos de desenvolvimento: básico, monocotiledôneo, dicotiledôneo e reduzido.

Dentre os estratos esporangiais, o tapete merece uma especial atenção, pois possui várias funções diretamente relacionadas com o desenvolvimento normal de andrósporos e andrófitos (Pacini *et al.* 1985). Como exemplo, pode ser citado que nas células tapetais são produzidos precursores de esporopolenina que constroem a exina. Outra característica importante que deve ser levada em consideração é o padrão de organização das tétrades, caráter de grande valor taxonômico dentro do grupo. Em Angiospermas, dois tipos básicos de androsporogênese são reconhecidos, o simultâneo e o sucessivo, embora tipos intermediários ocorram (Furness *et al.* 2002).

Detalhamentos da ontogenia dos órgãos reprodutivos têm sido utilizados nas análises filogenéticas, pois apresentam maior estabilidade (Tucker 1997). Nesse sentido, há trabalhos que utilizam descrições morfológicas do desenvolvimento do estame a fim de auxiliar na resolução de questões taxonômicas (Endress & Stumpf 1991; Endress 1996; Tucker 1996, 1997). Em Bromeliaceae, poucos são estes estudos, por isso, este trabalho busca descrever a ontogenia e anatomia da antera e do andrófito de *Tillandsia aeranthos*, fornecendo dados para o conhecimento da espécie e assim auxiliar na taxonomia e filogenia da família.

## **Material e métodos**

Foram coletadas inflorescências com botões florais em diferentes estádios do desenvolvimento de *Tillandsia aeranthos* (Fig. 1A), a qual apresenta flores com três brácteas, seis sépalas, seis pétalas, seis estames e três carpelos, cujo ovário é trilobular. Os estames são basifixos e a deiscência da antera é rimosa. As coletas ocorreram nos municípios de Santa Maria e São Sepé, RS, no período de junho a agosto dos anos de 2010 e 2011. Material testemunho foi depositado no Herbário SMDB do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria sob o 12.950.

Os botões florais, antes de fixados, foram dissecados sob microscópio estereoscópio Olympus SZH10, sendo preservados apenas os ovários e estames. O material foi fixado em glutaraldeído 1% e paraformaldeído 4% em tampão fosfato de sódio (McDowell & Trump 1976). Após a fixação, o material foi submetido a vácuo por 6 horas.

Preparação para microscopia de Luz

Após a retirada do vácuo, o material botânico, foi lavado em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (Gabriel 1982) duas vezes, por 15 minutos cada etapa. Após, foi lavado uma vez em água destilada e uma vez em Tween 20 2ml/L por 15 minutos. Posteriormente, foi desidratado em série etílica, seguido de lavagens do material em soluções de clorofórmio e etanol absoluto (1:3, 1:1, 3:1, 1:1, 1:3), finalizando com uma etapa de desidratação em etanol absoluto. O material foi pré-infiltrado com uma solução de hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid 1983) e etanol absoluto durante o período de 12h, seguido de infiltração em hidroxietilmetacrilato por cerca de 12h e emblocado com esta resina em suporte de Teflon até sua polimerização (Gerrits & Smid 1983). As secções, nas espessuras de 3 a 6µm, foram feitas em micrótomo de rotação Leica RM2245. O corante padrão utilizado foi Azul de Toluidina O 0,05% pH 4.4 em tampão de benzoato de sódio (O'Brien & McCully 1981). As observações e fotomicrografias foram realizadas em microscópio Leica DM2000 com câmera digital de imagem DFC 295 com LAS para captura.

Para análise do espessamento do endotécio, anteras maduras em pré-antese foram dissociadas em solução aquosa de ácido láctico 60% e posterior montagem das lâminas em glicerina alcoólica (Manning 1996). As análises foram realizadas com luz polarizada em microscópio Leica DM2000.

#### Testes histoquímicos

Testes histoquímicos foram realizados com Ácido Periódico - Reativo de SCHIFF (PAS) para detecção de polissacarídeos (O'Brien e McCully 1981); lugol para detecção de amido (Johansen 1940); Sudan III para lipídios; Azul de Anilina, na concentração 0,1% em tampão fosfato (pH 8,5), para detecção de calose (Martin 1959), Calcofluor White 0,01% em solução aquosa, para detecção de celulose (Pacini et al. 1999), Azul de Alciano (8GX) para detecção de polissacarídeos na esporoderme (Lillie 1965), Azul de Coomassie para proteínas totais (Southworth 1973) e Fuscina Básica para coloração da esporoderme (Saad 1963).

As observações e fotomicrografias para o teste de Azul de Anilina e Calcofluor foram realizadas em microscópio Leica DMR-HC com câmera DFC e uso do software LAS (Leica), no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). As demais análises foram realizadas no microscópio Leica DM2000, no Laboratório de Botânica Estrutural do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria.

## Material para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O material botânico destinado a MEV foi submetido aos mesmos procedimentos metodológicos citados acima, porém, após desidratação em etanol absoluto o material botânico foi colocado em acetona e, posteriormente foi submetido à secagem através do método de ponto crítico (Gersterberger & Leins 1978) com uso do equipamento Balzers 030. O material, após o ponto crítico, foi aderido ao suporte de alumínio com auxílio de fita carbono. Logo em seguida, passou pelo processo de metalização com ouro no metalizador modelo Balzers 050. As eletromicrografias foram realizadas no microscópio JEOL 6060, sob 20kV, no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## Resultados e Discussão

### 1. Aspectos gerais da flor madura

As flores de *Tillandsia aeranthos* apresentam-se compostas de seis estames e três carpelos, sendo que cada antera é, no estame, tetrasporangiada (Fig. 2A), considerado típico em Angiospermas (Davis 1966, Bhandari 1984) e padrão observado nas espécies de Bromeliaceae já analisadas (Sajo *et al.* 2005, Johri *et al.* 1992).

O filete é achatado dorsalmente e as suas células possuem um aspecto parenquimático, o feixe é do tipo colateral e a epiderme apresenta células pequenas alongadas radialmente. O filete em seção transversal possui contorno triangular, cujo ápice é ventral. O tecido fundamental é parenquimatoso e o tecido vascular é composto por um único feixe colateral.

O conectivo também possui células parenquimáticas e a epiderme apresenta células alongadas radialmente, muito similares à encontrada no filete, porém, na região que inicia o contorno do esporângio, apresenta-se com tamanho menor e isodiamétrico, persistindo assim em todo esporângio.

### 2. Diferenciação inicial da antera

A secção transversal mediana, do primórdio estaminal, revela uma estrutura com os sítios histológicos dérmico, subdérmico e central (Fig. 2B). Neste estágio, os primórdios

possuem formato trapezoidal o qual é mascarado pela curvatura do primórdio, que acaba, em seção, apresentando a concavidade voltada para a região ventral.

Em estádios seguintes de desenvolvimento, a antera apresenta um formato bilobado (Fig. 2C). A camada dérmica, que se diferencia em epiderme, apresenta divisões anticlinais e ao longo do desenvolvimento acompanha o crescimento em volume do primórdio estaminal. Na camada subdérmica, o crescimento celular é diferenciado, sendo este mais acentuado e no sentido radial, nas células que ocorrem nos contornos dos primórdios, sendo denominadas em tal região celulares iniciais subepidérmicas de acordo com Pozner (2001); na região dorsal o crescimento é acentuado e homogêneo e na região ventral, o crescimento celular é relativamente menos acentuado (Fig. 2B, 2C). Após o crescimento radial descrito para as células dos contornos dos primórdios, ocorrem divisões periclinais nas mesmas (Fig. 2C), o que vai definindo os futuros esporângios. As células dorsais e ventrais da camada subdérmica e parte das células centrais apresentam uma gradiente de crescimento dorsiventral peculiar, mais acentuado em direção dorsal, que acaba gerando a curvatura dos primórdios citada anteriormente (Fig. 2C). Na região central da antera se observa células do tecido pró-vascular relativamente menores em tamanho e com citoplasma denso.

Pozner (2001) em seu estudo sobre desenvolvimento esporangial revisa as premissas que envolvem esse desenvolvimento e propõe quatro etapas gerais para o desenvolvimento dos androsporangios, sendo a primeira descrita acima e, portanto, também ocorrendo em *T. aeranthos*. Assim é o desenvolvimento por divisões periclinais, principalmente das células subdérmicas, dentre um grupo de células que são similares e exibem características meristemáticas que caracteriza o desenvolvimento inicial dos esporângios.

Na seqüência do desenvolvimento, observa-se uma antera tetralobada, com divisões na camada subdérmica formando a camada parietal primária (CPP) e a inicial esporogênica (Fig.2D -2E)

Logo após, quando os esporângios estão bem delimitados observa-se a camada parietal primária (CPP) dividindo-se periclinamente formando a camada parietal secundária externa (CPSe), voltada para a epiderme e a camada parietal secundária interna (CPSi) (Fig.2F). Tal descrição se adequa ao descrito por Pozner (2001), quando generaliza para os androsporangios nas Angiospermas a formação dos mesmos a partir da camada subdérmica, descrita como 'iniciais subdérmicas'. Nessa fase inicial apenas pela posição que ocupam em função das divisões celulares que lhe deram origem.

No estágio subsequente de desenvolvimento, na porção ventral e dorsal da antera, observa-se as CPSe e CPSi se dividindo periclinamente (Fig.2G). A divisão da CPSe resulta

no endotécio e em uma camada média e a divisão da CPSi forma uma camada média e tapete. Esse tipo de desenvolvimento é considerado por Davis (1966) como básico.

Na posição lateral do esporângio, observa-se o desenvolvimento em CPSe e CPSi da mesma forma que nas regiões dorsal e ventral do esporângio, porém, no decorrer do desenvolvimento apenas a camada a CPSi se divide (Fig.2H) e, suas derivadas se diferenciam em camada média e tapete (Fig. 2H-2I), sendo observado que as células da CPSe se diferenciam em endotécio (Fig. 2I). Esse tipo de desenvolvimento caracteriza o padrão monocotiledôneo de desenvolvimento dos estratos parietais (Davis 1966). Assim, com o número de estratos esporangiais formados, se observa epiderme, endotécio, camadas médias (2-3) e tapete (Fig. 3A).

Nesta fase, em cada um dos esporângios, as células esporogênicas (Fig. 2F), sofrem divisões mitóticas, aumentando o número de células do tecido esporogênico (Fig. 2H). Tais células esporogênicas irão se diferenciar em célula-mãe de andrósporo, onde apresentam células relativamente mais volumosas, em cada esporângio, além de citoplasma denso, núcleo e nucléolo bastante proeminente. Pozner (2001), com base nessas características, classifica essas células como célula - mãe de andrósporo (meiócito) (Fig. 3A, 4A, 4B). Porém Pozner (2001) coloca que essas células apenas possuem um indicativo de diferenciação pré-meiótica (PCD), ou seja, são considerados como indicadores do provável destino meiótico. As células que possuem esse indicativo pré-meiótico somente adquirem desenvolvimento meiótico quando atingem a fase G2 pré-meiótica, e uma vez, nessa fase, o destino para célula-mãe de andrósporo se torna irreversível. A determinação, portanto, de quais células irá sofrer meiose é genética, porém, não é possível observar morfológicamente quando a célula entra em fase G2 pré-meiótica, apenas as características de PCD, que definem um futuro meiótico. Características observadas nas células esporogênicas nesse presente estudo.

Seguindo os padrões de classificação de Davis (1966) para desenvolvimento dos estratos parietais, não foi possível classificar apenas um tipo de desenvolvimento em *T. aeranthos*, pois, pelo que foi apresentado no presente trabalho, existem dois padrões de desenvolvimento em um mesmo esporângio, o qual, portanto, é definido pela não ocorrência de uma mitose na CPSe. Assim, se propõe a classificação para este tipo de padrão como do tipo misto. Esse tipo de classificação mostra que o ponto determinante para adoção de uma classificação se encontra na ocorrência, ou não, de divisões mitóticas nas células das camadas parietais secundárias. O padrão de desenvolvimento dos estratos parietais também foi discutido por Teryokhin *et al.* (2002) e que apresentam dois tipos: o centrífugo, referente ao

Monocotiledôneo de Davis (1966) e o Centrípeto, referente ao Dicotiledôneo de Davis (1966), os quais podem sofrer variação.

Para a maioria das monocotiledôneas já estudadas, o padrão de desenvolvimento é do tipo monocotiledôneo (Davis, 1966; Johri *et al.* 1992; Palser 1975; Dalgren *et al.* 1985), assim como para a maioria das Poales (Sajo *et al.* 2005; Nakamura *et al.* 2010), sendo considerado também um padrão comum em Bromeliaceae (Davis, 1966; Sajo *et al.* 2005). Contudo, os padrões básico ou reduzido também já foram descritos em monocotiledôneas (Davis 1966, Johri *et al.* 1992; Sajo *et al.* 2007; Sajo *et al.* 2009). Um aspecto importante do desenvolvimento observado em *T. aeranthos* é a não ocorrência de divisões periclinais nas células que compõem a camada parietal secundária externa nas regiões laterais dos esporângios. Característica similar por Oliveira (2001), em *Spondias mombin*, onde se observou dois padrões para a formação dos estratos parietais, também relativo, ou influenciado, às posições laterais e dorsi-ventral. Hermann & Palser (2000), em seu estudo com Ericaceae, também definiram mais de um tipo de desenvolvimento de desenvolvimento esporangial para as espécies estudadas, demonstrando, portanto, que no referido grupo taxonômico, não é possível definir um só tipo de desenvolvimento.

Dentro de Bromeliaceae não há registro de dois tipos de desenvolvimento esporangial no mesmo esporângio em uma mesma antera. Davis (1966) caracteriza um padrão como misto quando tipos diferentes de desenvolvimento ocorrem em um dado grupo taxonômico, condição em que poderia ser enquadrada Bromeliaceae, pois há registros de espécies que apresentam padrão básico e espécies que apresentam padrão monocotiledôneo e ainda, como já citado, espécies com padrão reduzido (Davis 1966; Johri *et al.* 1992; Palser 1975; Dalgren *et al.* 1985; Conceição 2005; Sajo *et al.* 2007; Sartori 2008; Sajo *et al.* 2009). Assim, se propõem que o padrão de desenvolvimento considerado como legitimamente misto deveria ser atribuída, apenas, e a exemplo do observado para *T. aeranthos*, no presente estudo, ou para *S. mombin* (Oliveira & Mariath 2001), em função do desenvolvimento. Nesse contexto, se sugere retirar a definição mista (o), de Davis (1966), quando refletir variabilidade morfológica em um táxon, que melhor caracteriza, em verdade, apenas a ocorrência de diversidade de padrões de desenvolvimento.

No presente trabalho, se propõe que a ocorrência de padrão misto em *T. aeranthos*, se deve ao tempo de desenvolvimento dos estames em verticilo em uma dada flor, associado, portanto, ao espaço interno da mesma, pois nas porções laterais, de contato entre estames é que não ocorre a formação de um quarto estrato esporangial. Em se considerando o verticilo como o acúmulo de células em um círculo, 12 camadas celulares seriam somadas ao diâmetro

do mesmo. Acredita-se que a curvatura observada ainda nos estames em estádios primordiais também seja associada a organização do terceiro verticilo e economia de espaço na flor que pode estar associada a organização, ou arquitetura da própria inflorescência.

O padrão tipo monocotiledôneo é considerado um caráter plesiomórfico em Poales (Sajo *et al.* 2005; Nakamura *et al.* 2010), porém, o tipo básico, foi descrito para Mayacaceae (Venturelli & Bouman, 1986) e Rapateaceae (Venturelli & Bouman, 1988), famílias próximas a Bromeliaceae (Linder & Rudall, 2005). Este mesmo padrão já foi descrito em Bromeliaceae para *Vriesea carinata* (Sartori, 2008) e *Dyckia pseudococcinea* (Conceição 2005). Em *Ananas comosus* foi observado a o desenvolvimento da camada parietal primária e formação da inicial arquesporial, porém, o tipo de padrão de formação dos estratos não foi estabelecido (Rao & Wee 1979).

### 3. Epiderme

A epiderme é caracterizada por apresentar apenas um estrato de células em todas as porções da antera, porém as células apresentam alterações na sua forma. Inicialmente, apresentam-se isodiamétrica, e ao longo do desenvolvimento, tornam-se levemente papilada (Fig. 3B), sendo persistente em todo desenvolvimento da antera, assim como nas Angiospermas em geral (Bhandari 1984). Observa-se a presença de ráfides na epiderme da antera (Fig. 7A). Na região estomial, as células apresentam tamanho relativamente menor quando comparada a região esporangial (Fig. 3C). Característica também encontrada em outras espécies de Bromeliaceae como *Dyckia pseudococcinea*, e algumas espécies de Poaceae (Nakamura *et al.* 2010).

### 4. Endotécio

Em *Tillandsia aeranthos* este se apresenta uniestratificado, como já descrito para algumas bromeliáceas (Sajo *et al.* 2005; Conceição 2005; Sartori 2008). Durante o desenvolvimento, as células do endotécio aumentam o seu volume, tornando-se alongadas anticlinalmente e apresentam espessamento composto de celulose (Fig. 3B), na antera madura, como na maioria das Angiospermas (Bhandari 1984; Batygina 2002).

Em *Tillandsia aeranthos* observa-se espessamento do endotécio em forma de ‘U’ (Fig. 3D, 3E), com a parede tangencial interna mais delgada (Fig. 3E), o mesmo descrito para *Dyckia brevifolia* (Manning 1996). Em *Vriesea carinata* o tipo em ‘U’ também foi

encontrado, além dos tipos helicoidal e anelar (Sartori 2008) e em *Dyckia pseudococcinea* o tipo helicoidal foi observado (Conceição 2005), assim nenhum tipo foi estabelecido como padrão. Em *Ananas comusus* (Rao & Wee 1979) e *Lindmania penduliflora* (Lakshmanan 1967) foi citada a presença de espessamento fibroso em uma camada da parede da antera, porém, não foi especificado que tipo de espessamento. Dalgren *et al.* (1985) coloca que na maioria das Poales ocorre o tipo circular. Em Poaceae ocorre o tipo em forma de U ou anelar (Manning 1996).

O endotécio é considerado como promotor na ruptura do estômio por contração diferencial das células, o que leva a abertura da antera e uma adaptação significativa, neste caso, são os padrões de espessamento do endotécio. Vale ressaltar, que nem sempre há uma relação direta entre o tipo de deiscência da antera e o padrão de espessamento, confirmado nos estudos de Gerenday & French (1988), onde foram examinados o padrão de espessamento de várias famílias de monocotiledôneas que apresentavam o mesmo tipo de abertura e vários foram os padrão de espessamento parietais encontrados.

O espessamento do endotécio é amplamente distribuído dentro das Angiospermas e vários são os tipos de espessamento parietal, podendo ter forma helicoidal, reticulado, em forma de 'U' e anelar (Manning 1996). Em monocotiledôneas há predomínio do tipo espessamento em forma de U e helicoidal (Manning 1966). Porém, segundo Dahlgren & Glifford (1982), o tipo espiral é o mais encontrado, exceto alguns grupos que apresentam o tipo circular, sendo o tipo em espiral um caráter plesiomórfico e o circular um tipo derivado que apresenta uma sinapomorfia.

Cabe salientar também que o tipo de espessamento parietal pode apresentar funcionalidade para duas condições distintas dentro da antera/espórangios e, portanto, apresentar espessamentos característicos. Assim, o momento da formação do espessamento e a sua localização no esporângio pode determinar seu arranjo morfológico final. Assim, caso o espessamento surja quando os esporângios ainda estão crescendo, através do alongamento de suas células, será mais adequado apresentar espessamentos anelares ou helicoidais. Além do desenvolvimento, o local de transição entre o esporângio e o conectivo, pode, em termos funcionais, servir como ponto de articulação, sendo, portanto, mais adequado tipos de espessamento anelar ou helicoidal. Caso não ocorra mais crescimentos dos esporângios ou a célula ocorre delimitando o esporângio, a ocorrência de uma parede com espessamento contínuo pode funcionar mantendo a forma do esporângio, servindo como uma região de amortecimento, permitindo retorno da forma, além de local, grande resistência e fonte de pressão sobre a linha estomial durante a deiscência.

Alguns autores utilizaram o padrão de espessamento para considerações filogenéticas, como Manning & Linder (1990) que estudaram 10 famílias de monocotiledôneas e para estudos sistemáticos (Franch *et al.* 1985; Manning & Goldblatt 1990). Algumas famílias demonstram-se conservadas no padrão de espessamento do endotécio, porém, outras apresentam maior variabilidade.

Freudenstein (1991) faz uma correlação entre a diminuição do espessamento do endotécio e o hábito da planta, demonstrando que epífitas são caracterizadas por uma relativa redução no espessamento nas células endoteciais. Porém Manning (1996) coloca que essa relação é filogenética e não ecológica.

Enfim, o padrão de espessamento do endotécio pode ou não variar dentro das famílias, algumas podem ser caracterizadas por apenas um tipo ou por várias tipos. Porém, em se tratando de gênero, o espessamento do endotécio é usualmente conservado (Manning 1996), podendo ser, então, utilizado para considerações taxonomicas. Em Bromeliaceae poucos estudos foram realizados e, nas espécies já estudadas, observa-se que há uma variação, porém o tipo em 'U' foi encontrado na maioria.

## 5. Camada média

Durante o desenvolvimento da antera, as células da camada média mudam sua morfologia, apresentando-se alongadas tangencialmente na fase de CMA (Fig. 3A, 4B). O número de camadas médias pode variar dentro das Angiospermas (Bhandari 1984), sendo que em *T. aeranthis* ela varia de 2-4 camadas, dependendo da localização. Observa-se que esse número de camada também surge por divisões das próprias camadas médias.

Na antera madura essa camada se degenera, restando apenas a epiderme e endotécio, característica comum para esse tipo de tecido (Bhandari 1984; Johri *et al.*, 1992; Batygina 2002) e o mesmo já descrito para Bromeliaceae (Sajo *et al.* 2005). Segundo Bhandari (1984), as camadas médias possuem a função de reserva de carboidratos, lipídios e proteínas, sendo observada presença de amido nas camadas médias em *T. aeranthis*.

## 6. Tapete

Algumas células se destacam pela sua forma ou por sua função na formação e no desenvolvimento do esporo, sendo o tapete o tecido que merece uma grande atenção devido a sua posição. O tapete é uma camada de células em contato direto com as células arquesporais

que tem como função principal fornecer nutrientes para o desenvolvimento do pólen (Pacini 1997; Pacini *et al.* 1985, Pacini & Franchi 1991; Kamelina 2002).

As células do tapete em *T. aeranthos* não apresentam um arranjo regular ao longo do desenvolvimento da antera, apresentando morfologias diferentes. No início do desenvolvimento, eles apresentam-se alongadas tangencialmente, as quais passam a apresentar diversidade de formas posteriormente.

Inicialmente, as células tapetais são uninucleadas, passando a bi e trinucleadas em função de mitoses acitocinéticas (Fig. 3F, 3G, 3H), resultando núcleos poliplóides (Fig. 3G). Divisões celulares são observadas no tecido tapetal até a fase de tétrades. Fusões nucleares também foram observadas nas células do tapete. Essa característica das células do tapete apresentarem mais de um núcleo ou serem poliplóides é comum para Angiospermas (Echlin 1973). Cabe salientar que, de maneira geral, naquelas células em que se observa apenas um núcleo, o mesmo é volumoso (Fig. 3F), podendo ser resultante de fusões nucleares, já descritas.

Rudall *et al.* (1997) colocam que o número variável de núcleos das células tapetais dentro das espécies de monocotiledôneas depende do estágio de desenvolvimento que se encontram e deve-se levar em conta que o tapete apresenta uma intensa atividade metabólica na fase de meiose (Shivanna 2003).

Em *T. aeranthos*, algumas mitoses acabam sendo citocinéticas, com a construção de paredes longitudinais tangenciais, ou oblíquas, o qual acaba gerando, em alguns locais, estratos com duas a três camadas celulares. Assim, com um maior volume celular localizado, acaba ocorrendo a projeção de tais células tapetais para o interior do lóculo, organização esta que persiste até a degeneração do tapete (Fig. 3H, 3I). Durante a fase que antecede a meiose, as células do tapete permanecem adjacentes à parede do lóculo, circundando-o, não tendo sido observado a liberação do seu conteúdo, incluindo as células que se projetam para o interior do lóculo.

Durante o estágio de meiose, onde a parede de calose nos meiócitos é evidente, as células do tapete apresentam-se com maior densidade citoplasmática que na fase anterior, as células se tornam mais volumosas e se projetam para dentro do lóculo, porém a parede celular permanece intacta, não havendo liberação do conteúdo citoplasmático (Fig. 3H). Também há persistência de vacúolos com substâncias pécticas em seu interior. Nesta fase de desenvolvimento, são observadas células tapetais com até três nucléolos (Fig. 3H).

Durante o estágio de tétrades as células do tapete apresentam retração citoplasmática junto a face locular. Nesta fase de desenvolvimento, as células do tapete se projetam ainda

mais para dentro do lóculo (Fig. 3I) por apresentarem uma morfologia mais alongada, porém, não se observa células tapetais entre os meiócitos e as paredes celulares ainda persistem, o que evidencia que não há liberação do seu conteúdo celular para dentro do lóculo. Assim, independente de toda variação ocorrida ao tecido tapetal, é possível definir o tapete como do tipo secretor.

Na fase de andrósporo livre, as células do tapete permanecem junto ao lóculo, porém já está em aspecto degenerativo (Fig. 3J). Echlin (1973) descreve que o estágio máximo de desenvolvimento de parede do pólen coincide com o estágio de degeneração tapetal no tapete tipo secretor. Essa fase de atividade do tapete é culminante com a liberação do material que formará o pollenkit, sendo que a liberação e transferência de precursores de esporopolenina é uma atividade verdadeiramente secretora.

A degeneração das células tapetais é um processo que está relacionado a atividade secretora destas células (Hesse & Hess 1993) podendo ocorrer em diferentes momentos de desenvolvimento da antera, como no estágio de tétrades ou no estágio de andrósporo livre (Heslop - Harrison 1968). Em *Tillandsia aeranthos*, as células tapetais mostram sinais de degeneração na fase de andrósporo livre. Hesse & Hess (1993) colocam que a melhor metodologia empregada para a análise do desenvolvimento do tapete é o método de criofixação, pois há questionamentos se, muitas vezes, a degeneração das células do tapete não está relacionada ao uso de fixadores químicos.

São dois os principais tipos de tapete conhecidos, o secretor e o plasmodial (Echlin 1973; Pacini & Franchi 1991). Entretanto, um tipo intermediário, o cíclico invasivo foi descrito por Furness & Rudall (1998, 2001a) como “invasivo não-sincial”, no qual as células invadem o lóculo porém, não formam o plasmódio, como no tipo plasmodial, sendo considerado um terceiro tipo. Porém, Pacini (1997) cita o nome invasivo como sinônimo de ameboidal. O tapete descrito neste estudo apresenta células que tendem a invadir o lóculo na fase de tétrades, porém, não se observou células livres no interior do lóculo, em contato com os andrósporos, como descritos para algumas espécies de bromélias. No tapete secretor, o fluido locular representa um meio de diferenciação do gametófito gerado pelo esporófito. Esse fluido é extremamente reduzido em volume ou pode ser ausente no tipo plasmodial (Pacini *et al.* 1895).

O critério mais confiável para a classificação dos tipos de tapete é aquele que leva em consideração a morfologia das células, sendo a mudança de posição das células e a posição das mesmas, a principal distinção entre eles (Pacini & Franchi 1991). Esse critério parece ser o mais adequado, pois considera a ontogenia da antera e não apenas uma característica de uma

determinada fase. Sajo *et al.* (2005) descreve que as células do tapete em Bromeliaceae se comportam como tipo secretor e tipo intermediário, sendo o tipo intermediário provavelmente derivado do tipo secretor.

O tipo secretor, aqui descrito, é o tipo mais simples de tapete (Pacini & Franci 1991) e é predominante na maioria das plantas terrestres, inclusive em Angiospermas basais (Furness & Rudall 2001a). Em monocotiledôneas os três tipos ocorrem (Furness & Rudall 1998) e Pacini *et al.* (1985) cita que o tipo ameboidal ocorre na maioria das monocotiledoneas, porém cita a ocorrência do tipo secretor em algumas famílias como Zingiberaceae. Em Bromeliaceae, o tipo secretor é o mais encontrado (Davis, 1966; Johri 1992). Em *Vriesea carinata* (Sartori 2008) e em *Dickya pseudococcinea* (Conceição 2005) foi encontrado o tipo invasivo. Em *Ananas comosus* (Rao & Wee 1979) *Lindmania peduliflora* (Lakshmanan 1967), *Tillandsia albina* (Brighigna & Papini 1993) e *T. pallidoflavens* (Hess 1991) há ocorrência do tipo secretor. Nas espécies estudadas por Sajo *et al.* (2005) foram encontrados tapetes do tipo secretor e invasivo. Porém, em Typhaceae, família basal próxima a Bromeliaceae, o tipo de tapete encontrado é plasmodial (Asplund 1972) como também em algumas Zingiberales (Furness & Rudall 1998).

Essas observações em *T. aeranthis* e os tipos encontrados em monocotiledôneas, como o invasivo por Rudall & Furness (1998) e Sajo *et al.* (2005), permite dizer que estudos mais detalhados sobre aspectos ontogenéticos das células do tapete se fazem necessário, pois representa um grande valor taxonômico.

## 7. Androsporogênese

Em secção transversal da antera, o tecido esporogênico apresenta células de formato poligonal ocupando todo espaço locular com citoplasma denso e núcleos grandes (Fig 4A).

Antes do início da meiose, as células esporogênicas apresentam-se vacuoladas assim como as células dos demais tecidos. Logo após, as células apresentam um citoplasma denso, núcleo que ocupa grande parte de célula com um nucléolo também denso se diferenciando assim em CMA (Fig. 4B). Estas por sua vez aumentam de volume durante este processo, alcançando o seu tamanho máximo.

Observa-se, antes do início de meiose, a presença de canais citomíticos entre as CMA (Fig. 4C) que permite um sincronismo no desenvolvimento das células-mãe. Com a total deposição da calose, esses canais são interrompidos.

O depósito de calose inicia pelos vértices até envolver totalmente as células-mãe de andrósporos, característica que marca o início da meiose (Fig. 4D). Com o aumento de deposição de calose entre as CMA, os meiócitos se tornam mais isolados. A deposição de calose ocorre entre a membrana plasmática e parede celular celulósica (Bhandari 1984).

Durante o estágio de meiose observa-se que há um sincronismo de fases I e II (meiose) dentro do esporângio e entre as anteras, sendo observado diferentes fases de meiose em uma mesma antera, como a prófase, metáfase e telófase (Fig. 4E, 4F, 4G).

O final da meiose I é marcada pela clivagem centrífuga do citoplasma da célula-mãe (Fig. 4H) e observa-se a presença de díades com parede de calose separando as células-filhas (Fig. 4I). Esse tipo de observação revela que a meiose ocorrida é do tipo sucessiva. Após a meiose II há formação de quatro andrósporos que estão organizados em tétrades com arranjo isobilateral ou decussado (Fig. 4J, 4K). Há presença de calose ao redor da tétrade. E segundo Bhandari (1984), a presença de calose ao redor dos andrósporos proporciona uma autonomia no desenvolvimento das células gametofíticas haploides.

A seguir, ocorre a dissolução da parede de calose e observa-se que em uma mesma antera há esporângios com tétrades com calose em dissolução e outros esporângios com andrósporos livres.

Nas Angiospermas, são reconhecidos dois tipos básicos de citocinese meiótica, a sucessiva e a simultânea, sendo que a simultânea é considerada apomórfica em relação à sucessiva (Davis 1966). Além desses dois tipos, um tipo intermediário também já foi registrado (Bhandari 1984; Furness *et al.* 2002; Sannier *et al.* 2006). O padrão intermediário está associado a formação de tétrades irregulares (Furness & Rudall 2001; Furness *et al.* 2002).

A meiose do tipo sucessiva é predominante entre as monocotiledôneas (Dalgren *et al.* 1985, Johri *et al.* 1992, Furness & Rudall 1999; Furness & Rudall 2001; Nadot *et al.* 2008). Porém, em Asparagales ocorre o tipo simultâneo. Em Arecaceae os dois tipos de citocinese foram registradas, contrastando com a uniformidade encontrada em monocotiledôneas (Sannier *et al.* 2006). E segundo Furness *et al.* (2002) a meiose simultânea surgiu independentemente em vários grupos de monocotiledôneas.

Em Poales, os dois tipos de androsporogênese ocorrem (Furness & Rudall 2001). O tipo sucessivo é encontrado em Mayacaceae (Venturelli & Bouman 1986) e Typhaceae (Furness & Rudall 2000), mas não há registros para Rapateaceae, a qual possui o tipo simultâneo (Venturelli & Bouman 1988) e em *Streptochaeta* e *Ecdeiocola*, duas espécies de Poaceae, foi registrado androsporogênese simultânea e sucessiva, respectivamente (Sajo *et al.*

2009). Em Bromeliaceae, todas as espécies estudadas apresentam este mesmo padrão (Lindschau 1933; Gauthé 1965; Lakshmanan 1967; Hess 1991; Sajo *et al.* 2005; Furness & Rudall 1999; Nadot *et al.* 2008; Sartori 2008).

Nadot *et al.* (2008) em seus estudos filogenéticos através da androsporogênese examinam não somente o tipo de divisão celular mas também o tipo de formação da parede entre os esporos e o tipo de tétrade formada. Nesse sentido, eles colocam que as tétrades formadas são muito variadas dentro de monocotiledôneas e o tipo de tétrade, geralmente, está relacionada ao tipo de citocinese. Estudos indicam que o padrão de formação da abertura, ou seja, a forma, estrutura, número e distribuição da abertura do andrófito, também está relacionado com o tipo de androsporogênese (Ressayre *et al.* 2005). Em monocotiledôneas tétrades tetraédricas são geralmente produzidas quando a citocinese é simultânea e a isobilateral e decussada quando for do tipo sucessiva (Furness & Rudall 1999, 2001; Nadot *et al.* 2008).

A formação da parede na citocinese do tipo sucessiva é centrífuga, enquanto que na citocinese do tipo simultâneas, a formação da parede centrípeta ou centrífuga pode ocorrer, como observado em *Tillandsia aeranthos*.

A presença de calose ao redor dos andrósporos proporciona uma autonomia no desenvolvimento das células haplóides, ou seja, estabelece uma barreira seletiva entre as células haplóides (Bhandari 1984). Corroboram tal consideração, exemplos de esterelização dos meiócitos em função da dissolução precoce da calose, causando, muitas vezes, o aborto do pólen. A calose, então, é essencial para o correto desenvolvimento do pólen.

Antes da dissolução total da parede de calose percebe-se o início da formação da primexina no andrósporo (Fig. 5A). Depois de dissolvida essa parede, uma fina exina se evidencia e a intina é depositada (Fig. 5B). A esporoderme do andrófito maduro apresenta exina reticulada (Fig. 5C, 6D, 6E).

## 9. Androgametogênese

Após a liberação dos andrósporos no fluido locular ocorre um conjunto de modificações, como aumento do volume do andrósporo, amilogênese, vacuolação e aumento do espessamento da exina. Estes vacúolos tornam-se maiores, formando um só vacúolo. Este vacúolo formado desloca o núcleo do esporo em direção a esporoderme, polarizando-o (Fig. 5D). Momento que marca o início da gametogênese.

O andrófito quando entra em contato com o fluido locular se expande e desenvolve uma parte mais espessa. A parede do andrófito é constituída de intina, composta de duas camadas, uma celulósica e outra péctica (Fig. 5B, 6F), e exina (Fig. 5C, 5E, 6D, 6E). A parte mais externa da exina, a sexina, é reticulada (Fig. 5C, 6D, 6E) e a intina é mais espessa na região de abertura. Os testes histoquímicos revelaram a presença de lipídios e proteínas na exina (Fig. 6C, 6G e 6H). Foi observada presença de polissacarídeos pécticos e proteínas na intina (Fig. 6B, 6F e 6H).

Logo em seguida, ocorre a primeira mitose no andrófito. Essa divisão é assimétrica, formando a célula generativa e a célula vegetativa (Fig. 5F). A célula generativa é inicialmente de formato lenticelar e de localização periférica, com tamanho relativamente menor, sendo comprimida pela célula vegetativa. A posição da célula generativa é oposta a abertura do esporo. A célula vegetativa recebe a maior parte do citoplasma do andrófito uninucleado, apresentando um núcleo esférico e de posição central. As duas células formadas estão separadas por uma parede constituída de calose (Fig. 5G).

Foi possível observar o momento em que a célula generativa é englobada pelo citoplasma da célula vegetativa, na região central do andrófito (Fig. 5H, 5I). Após o englobamento ter encerrado, a célula generativa migra em direção ao núcleo da célula vegetativa. Essa aproximação caracteriza a formação da unidade germinativa masculina (Fig. 6A).

A presença de grãos de amido, em grande quantidade, foi detectada no citoplasma da célula vegetativa, logo após a primeira divisão mitótica (Fig. 6B). A célula generativa não desenvolve amiloplastos. Teste para lipídios foi realizado nesta fase, evidenciando lipídios apenas na esporoderme (Fig. 6C). Nesse sentido, Franchi *et al.* (1996) sugere que o amido do pólen forma sacarose, a qual protege a membrana do pólen contra dissecação. Zona (2001) em seu estudo qualitativo sobre estoque de amido no andrófito em monocotiledôneas mostra que em Bromeliaceaceae, as espécies estudadas nas três subfamílias tradicionais, apresentam amido no andrófito, exceto em espécies de *Aechmea* e *Pitcairnia*. Todas as espécies estudadas de Tillandsioideae apresentaram amido no andrófito, inclusive em *Tillandsia hildae*. O andrófito de *T. aeranthis* é liberado na forma bicelular e sem presença de amido. Dahlgren *et al.* (1985) consideram que o andrófito bicelular representa uma característica plesiomórfica nas Angiospermas em geral, como nas monocotiledôneas. Cabe salientar que o andrófito tricelular ocorre em monocotiledôneas e dicotiledôneas, porém, as maiorias das famílias consistem de pólen bicelular (Brewbaker 1967).

A exina em *T. aeranthos* é formado por uma sexina reticulada. Esse tipo de exina é encontrada na maioria das espécies de Bromeliaceae já estudadas (Zavada 1983; Halbritter 1992; Sartori 2008). Porém em *Tillandsia caput-medusa* a exina é tectada-columelada (Brighigna *et al.* 1981).

O andrófite de *T. aeranthos* apresenta um único tipo de abertura em forma de sulco que fica no pólo distal (Fig. 7A, 7B).

O andrófite das Angiospermas, em geral, apresenta uma morfologia altamente diversificada, desde a textura e estrutura da parede, como a ornamentação e a forma da abertura. As aberturas possuem um papel muito importante na germinação do pólen e podem variar em forma, número e localização. Em Angiospermas basais ocorre frequentemente o pólen monosulcado (Zavada 1983) assim como nas monocotiledôneas (Halbritter & Hesse 1993; Furness & Rudall 1999a). Esse tipo de padrão de abertura, o monosulcado, é considerado um caráter plesiomórfico em monocotiledôneas e nas angiospermas basais (Furness & Rudall 1999). Em Poales a condição predominate é abertura sulcada, exceto em Thypaceae que ocorre o tipo porado (Linder & Rudall 2005).

Em Bromeliaceae, três tipos de abertura ocorrem: o porado, a qual é restrito a Bromelioideae; o inaperturado; e o sulcado (Zavada 1983; Halbritter 1992). Sendo este último o tipo predominante na família, assim como em Tillandsioideae, porém, os três tipos podem ocorrer na nesta subfamília (Till 2000). Já Ehler & Schill (1973) coloca que Pitcarnioideae e Tillandsioideae são caracterizados por apresentarem pólen colpados. Várias espécies de Bromeliaceas foram estudadas no que diz respeito ao tipo de abertura, principalmente o tipo sulcado, que pode apresentar variações (Halbritter 1992; Halbritter & Hesse 1993). Dentre essas espécies, podemos citar *Aechmea conglomerata*, *Quesnelia edmundoi* e *Orthophytum vagans* que apresenta abertura porada, sendo esta uma característica restrita a Bromelioideae (Halbritter 1992). Andrófito inaperturados foram descritos para algumas Tillandsioideae (*Guzmania*) e muitas Bromelioideae, incluindo *Aechmea*, *Bromelia*, *Canistrum*, *Cryptanthus* e *Fascicularia* (Halbritter 1992, Furness & Rudall 1999a). Para aparentados de Bromeliaceae, como Rapateaceae, foram descritos pólen com abertura do tipo monosulcado, disulculado (Carlquist 1961).

Levando em consideração que os tipos de abertura do andrófite servem como base para sistemática e taxonomia, sabe-se que a abertura sulcada é o tipo que representa o estado ancestral em monocotiledôneas (Dahlgren *et al.* 1985; Habritter & Hesse 1993) e as variações na forma dos sulcos são relevantes para a sistemática e filogenia dos grupos (Zavada 1983).

Muitas características diagnósticas do andrófito podem ser vistas como significativas na dispersão e germinação e a morfologia do pólen reflete a situação sistemática dentro da família, sendo necessários estudos detalhados dos estratos da esporoderme para classificações e considerações taxonômicas mais precisas em Bromeliaceae.

**Agradecimentos:** Ao César Carvalho de Freitas, pela inestimável ajuda na confecção do material para análise. À Merielen Saldanha, Patrícia Kurtz da Costa, Mariane P. Dorneles, do laboratório de Botânica Estrutural, pela ajuda na rotina laboratorial. À Marisa Binotto, pelo auxílio na preparação do material técnico de laboratório. Ao Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araujo Mariath pela atenção dispensada a todas as solicitações pelo melhor andamento e encaminhamento do presente trabalho. Ao Laboratório de Anatomia Vegetal – IB/UFRGS pelo auxílio na execução de rotinas laboratoriais para microscopia de fluorescência.

### **Referências Bibliográficas**

APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society** 161(2): 105-121.

ASPLUND, I. 1972. Embryological studies in the genus *Typha*. **Svensk Botanisk Tidskrift** 66(1): 1-17.

BARFUSS, M. H. J., SAMUEL, R., TILL, W. & STUESSY, T. F. 2005. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. **American Journal of Botany** 92(2): 337-351.

BATYGINA, T. B. 2002. **Embryology of flowering plants-Terminology and concepts.-** Generative organs of flower. v.1, Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd ed. New Dheli.

BENZING, D. H., SEEMANN, J., RENFROW, A. 1978. The foliar epidermis in Tillandsioideae (Bromeliaceae) and its role in habitat selection. **American Journal Botany** 65(3): 359-365

BENZING, D.H. 1980. **The Biology of the Bromeliads**, Eureka, California. Press, Cambridge.

- BENZING, D. H. 2000. **Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation**. Cambridge University Press, Cambridge.
- BENZING, D. H., LUTHER, H. & BENNETT, B. 2000. Reproduction and life history. Pp.245-328. In **Bromeliaceae profile of an adaptive radiation** (David H. Benzing, ed.) University Press, Cambridge.
- BHANDARI, N. 1984. The microsporangium. Pp.53-121. In **Embryology of angiosperms** (B. M. Johri, ed.). Springer-Verlag, Berlin.
- BREWBAKER, J.L. 1967. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the Angiosperms. **American Journal of Botany** 54(9): 1069-1083.
- BRIGHIGNA, L., FIORDI, A. C. & PALANDRI, M. R. 1980. The possible role of a fibrous body in generative cell of the pollen grain of *Tillandsia caput-medusa* Morr (Bromeliaceae). **American Journal of Botany** 67(10): 1493-1494.
- BRIGHIGNA, L., FIORDI, A. C. & PALANDRI, M. R. 1981. Ultrastructural investigations on the two-nucleate pollen grain of *Tillandsia caput-medusae* Morr. (Bromeliaceae). **American Journal of Botany** 68(8):1033-1041.
- BRIGHIGNA, L. & VICTORIA, A. 1990. Observations on some Mexican species of the genus *Tillandsia* L. (Bromeliaceae). **Webbia** 44: 107-119.
- BRIGHIGNA, L. & PAPINI, A. 1993. The ultrastructure of the tapetum of *Tillandsia albina* MEZ ET PURPUS. **Phytomorphology** 43: 261-274.
- CARLQUIST S. 1961. Pollen morphology of Rapateaceae. **Aliso** 5: 39 – 66.
- CONCEIÇÃO, S. P. 2005. **Ontogenia das anteras de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Smith (Bromeliaceae)**. Monografia de conclusão de curso. Universidade Santa Úrsula, Rio de Janeiro, RJ.

DAHLGREN, R. M. T. & CLIFFORD, H. T. 1982. **The monocotyledons: a comparative study**. Academic Press, London.

DAHLGREN, R. M. T., CLIFFORD, H. T. & YEO, P. F. 1985. **The families of the monocotyledons**. Springer-Verlag, Berlin.

DAVIS, G. L. 1966. **Systematic embryology of the angiosperms**. John Wiley & Sons Ed., New York.

ECHLIN, P. 1973. The role of the tapetum during microsporogenesis of Angiosperms. Pp 41-61. In **Pollen: Development and physiology**. Heslop-Harrison, J. (eds.) Butterworths, London.

EHLER, N. & SCHILL, R. 1973. Die pollenmorphologie der Bromeliaceae. **Pollen et Spores** 15: 13-45.

ENDRESS, P. & K. STUMPF, S. 1991. The diversity of stamen structures in "Lower" Rosidae (Rosales, Fabales, Proteales, Sapindales). **Botanical Journal Linnean Society** 107: 217-293.

ENDRESS, P. K. 1996. Diversity and evolutionary trends in angiosperm anthers. p.92-110. In **The anther: form, function and phylogeny** (W. G. D'Arcy & R. C. Keating, ed.) Cambridge University Press, Cambridge.

ERDTMAN, G. & PRAGLOWSKI, J. 1974. A note on pollen morphology. Pp.14:28-33. In **Bromeliaceae** (Smith, L. B., Downs, R. J., eds.). **Flora Neotropica**, Hafner Press, New York.

EVA, M., PAPINI, A. & BRIGHIGNA, L. 2006. Ultrastructural studies on bicellular pollen grains of *Tillandsia seleriana* Mez (Bromeliaceae), a neotropical epiphyte. **Caryologia** 59(1): 88-97.

FREUDENSTEIN, J.V. 1991. A systematic study of endothelial thickenings in the Orchidaceae. **American Journal of Botany** 78: 766-781.

FRANCHI, G.G., BELLANI, L., NEPI, M. & PACINI, E. 1996. Types of carbohydrate reserves in pollen: localization, systematic distribution and ecophysiological significance. **Flora** 191: 143-159

FURNESS C. A. & RUDALL P. J. 1998. The tapetum and systematics in monocotyledons. **Botanical Review** 64(3): 201-239.

FURNESS, C. A. & RUDALL, P. J. 1999. Microsporogenesis in monocotyledons. **Annals of Botany** 84(4): 475-499.

FURNESS C.A. & RUDALL P. J. 1999a. Inaperturate pollen in monocotyledons. **International Journal of Plant Sciences** 160(2): 395-414.

FURNESS C. A & RUDALL P. J. 2000. Aperture absence in pollen of monocotyledons. Pp 249–257. In: **Pollen and spores: morphology and biology**. Harley MM, Morton CM, Blackmore S. (eds), Royal Botanic Gardens, Kew.

FURNESS, C. A. & RUDALL, P. J. 2001a. The tapetum in basal angiosperms: early diversity. **International Journal of Plant Sciences** 162(2): 375-392.

FURNESS, C. A. & RUDALL, P. J. 2001. Pollen and anther characters in monocots systematic. **Grana** 40(1-2): 17-25.

FURNESS, C. A., RUDALL, P. J. & SAMPSONT, F. B. 2002. Evolution of microsporogenesis in Angiosperms. **International Journal of Plant Sciences** 163(2): 235-260.

GABRIEL, B.L. 1982. **Biological Electron Microscopy**. Van Nostrand Reinhold Company: New York.

GAUTHÉ, J. 1965. Contribution a l'étude caryologique des Tillandsiées. **Mémoires du Muséum National Dhistoire Naturelle** 16: 39-59.

GERENDAY, A. & FRENCH, J.C. 1988. Endothelial thickenings in anthers of porate monocotyledons. **American Journal Botany** 75(1): 22-25.

GERRITS, P. O. & SMID, L. 1983. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy** 132: 81-85.

GERSTERBERGER, P., LEINS, P. 1978. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solaneceae) Anwendung einer neuen Präparationsmethode. **Ber Deutsch Bota Ges** 91: 38- 287

GIVNISH, T. J., MILLAM, K. C., BERRY, P. E. & SYTSMA, K. J. 2007. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. **Aliso** 23: 3-26.

GIVNISH, T. J., AMES, M., MCNEAL, J. R., MCKAIN, M. R., STEELE, P. R., DEPAMPHILIS, C. W., GRAHAM, S. W., PIRES, J. C., STEVENSON, D. W., ZOMLEFE, W. B., BRIGGS, B. G., DUVALL, M. R., MOORE, M. J., HEANEY, M., SOLTIS, D. E., SOLTIS, P. S., THIELE, K., & LEEBENS-MACK, J.H. 2010. Assembling the Tree of the monocotyledons: Plastome Sequence Phylogeny and Evolution of Poales. **Annals Missouri Botanic Garden** 97(4): 584-616.

GIVNISH, T. J., BARFUSS, M. H. J., VAN EE, B., RIINA, R., SCHULTE, K., HORRES, R., GONSISKA, P. A., JABAILY, R. S., CRAYN, D. M., SMITH, A. C., WINTER, K., BROWN, G. K., EVANS, T. M., HOLST, B. K., LUTHER, H., TILL, W., ZIZKA, G., BERRY, P. E. & SYTSMA, K. J. 2011. Phylogeny, adaptive, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an Eighth-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany** 98(5): 1-24.

HALBRITTER, H. 1992. Morphologie und systematische bedeutung des pollens der Bromeliaceae. **Grana** 31(3): 197-212.

HALBRITTER, H & HESSE, M. 1993. Sulcus morphology in some monocots families. **Grana** 32(2): 87-99.

HERMANN, P.M. & PALSER, B. F. 2000. Stamen development in the Ericaceae. I. Anther wall, microsporogenesis, inversion, and appendages. **American Journal of Botany** 87(7): 934-957.

HESLOP-HARRISON, J. 1968. Tapetal origin of pollen-coat substances in *Lilium*. **New Phytomorphology** 67(4): 779-786.

HESS, M. W. 1991. Ultrastructure of organelles during microsporogenesis in *Tillandsia pallidoflavens* (Bromeliaceae). **Plant Systematics and Evolution** 176(1-2): 63-74.

HESSE, M. W., HESS, M. 1993. Recent trends in tapetum research. A cytological and methodological review. **Plant Systematics and Evolution** (Suppl.) 7: 127-145.

HORRES, R., ZIZKA, G., KAHL, G. & WEISING, K. 2000. Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from trnL (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. **Plant Biology** 2(3): 306-315.

JACQUES-FÉLIX, H. 2000. The discovery of a bromeliad in Africa: *Pitcarnia feliciana*. **Selbyana** 21(1-2):118-124.

JOHANSEN, D. A. 1940. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill, New York.

JOHRI, B. M., AMBEGAOKAR, K. B. & SRIVASTAVA, P. S. 1992. **Comparative embryology of angiosperms**. Springer-Verlag, Berlin.

KAMELINA, O. P. 2002. Anther. p. 13. In **Embryology of flowering plants terminology and concepts** (T. B. Batygina, ed.) Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi.

LAKSHMANAN, K. K. 1967. Embryological studies in the Bromeliaceae. **Processing Indian Academy. Science** LXV: 49-55.

LILLIE, R. D. 1965. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. McGraw-Hill, New York.

LINDER, H. P. & RUDALL, P. 2005. Evolutionary History of Poales. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** 36: 107-124.

LINDSCHAU, M. 1933. Beitrage zur zytologie der Bromeliaceae. **Planta** XX: 506-530

LOUZADA, R. B.; PALMA-SILVA, C.; CORRÊA, A. M.; KALTCHUK-SANTOS, E. & WANDERLEY, M. G. L. 2010. Chromosome number of *Orthophytum species* (Bromeliaceae). **Kew Bulletin** 65(1): 53-58.

MANNING, J. C. & GOLDBLATT, P. 1990. Endothecium in Iridaceae and its systematic implications. **American Journal of Botany** 77(4): 527-532.

MANNING, J. C. & LINDER, H. P. 1990. Cladistic analysis of patterns of endothelial thickenings in the Poales/Restionales. **American Journal of Botany** 77(2): 196-210.

MANNING, J. C. 1996. Diversity of endothelial patterns in the angiosperms. p.136-158. In **The anther: form, function and phylogeny**. W. G. D'Arcy & R. C. Keating. (ed.), Cambridge University Press, Cambridge.

MARTIN, F. W. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technology** 34(3): 125-128.

MCDOWELL, E. M. & TRUMP, B. R. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine** 1000: 405-414.

MOREIRA, B. A., CRUZ-BARROS, M. A. V. & WANDERLEY, M. G. L. 2005. Morfologia polínica de algumas espécies dos gêneros *Neoregelia* L. B. Sm. E *Nidularium* Lem. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botânica Brasílica** 19(1): 61-70.

NADOT, S., FURNESS, C.A., SANNIER, J., PENET, L. TRIKI-TEURTROY, S., ALBERT, B., RESSAYRE, A. 2008. Phylogenetic comparative analysis of microsporogenesis in angiosperms with a focus on monocots. **American Journal of Botany** 95(11): 1426-1436.

NAKAMURA, A.T., LONGHI-WAGNER, H.M. & SCATENA, V.L. 2010. Anther and pollen development in some species of Poaceae (Poales). **Brazilian Journal Biology** 70(2): 351-360.

O'BRIEN, T. P. & MCCULLY, M. E. 1981. **The study of plant structure: principles and selected methods**. Melbourne, Termacarphi Pty. Ltd.

OLIVEIRA, J. M. S. 2001. **Androsporogênese a Androgametogênese em *Spondias mombin* L. (cajazeira – Anacardiaceae)**. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

OLIVEIRA, J. M. S. & MARIATH, J. E. A. 2001 Anther and pollen development in *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) clone CP76. **Phytomorphology** 51:91-100.

PACINI, E. & FRANCHI, G. G. 1991. Diversification and evolution of the tapetum. Pp. 301-316. In Blackmore, S. & Barnes, S. H. (Eds.). **Pollen and Spores – patterns of diversification**. Syst. Assoc. Clarendon Press, Oxford.

PACINI, E. 1997. Tapetum character states: analytical keys for tapetum types and activities. **Canadian Journal of Botany** 75(9): 1448-1459.

PACINI, E. FRANCHI, G. G. & RIPACCIOLI, M. 1999. Ripe structure and histochemistry of some gymnosperms. **Plant Systematic and Evolution** 217(1-2): 81-99.

PACINI, E., FRANCHI, G. G. & HESSE, M. 1985. The tapetum: its form, function, and possible phylogeny in Embryophyta. **Plant Systematic and Evolution**. 149(3-4): 155-185.

PAGGI, G. M. ; PALMA-SILVA, C. ; SILVEIRA, L. C. T. ; KALTCHUK-SANTOS, E.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. & BERED, F. 2007. Fertility of *Vriesea gigantea* Gaud. (Bromeliaceae) in southern Brazil. **American Journal of Botany** 94(4): 683-689.

PALMA-SILVA, C.; SANTOS, D. G.; KALTCHUK-SANTOS, E. & BODANESE-ZANETTINI, M. H. 2004. Chromosome numbers, meiotic behavior, and pollen viability of species of *Vriesea* and *Aechmea* genera (Bromeliaceae) native to Rio Grande do Sul, Brazil. **American Journal of Botany** 91(6): 804-807.

PALMA-SILVA, C. 2008. **Genética, filogeografia e fertilidade de populações de *Vriesea gigantea* Gaud. (Bromeliaceae)**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

PALMA-SILVA, C.; PAGGI, G. M.; FELICETTI, R. A. ; FERRAZ, R.; KALTCHUK-SANTOS, E.; BERED, F. & BODANESE-ZANETTINI, M. H. 2008. Meiotic behavior and pollen viability of wild populations of the neotropical species (Bromeliaceae). **Plant Species Biology** 23(3): 217-221.

PALSER, B. F. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: Embryology. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 62(3): 621–646.

POZNER, R. 2001. Approach to the early sporangial development in angiosperms considering meiosis control and cellular differentiation. **Plant Systematic Evolution** 230(1-2): 25-42

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

RESSAYRE, A., LEANNE, D., TRIKI-TEURTROY, S., FORCHIONI, A. & NADOT, S. 2005. Post-Meiotic cytokinesis and pollen aperture pattern ontogeny: comparison of development in four species differing in aperture pattern. **American Journal of Botany** 92(4): 576-583

RUDALL, P. J., FURNESS, C. A., CHASE, M. W. & FAY, M. F. 1997. Microsporogenesis and pollen sulcus type in Asparagales (Liliana). **Canadian Journal of Botany** 75(3): 408-430.

SAAD, S. I. 1963. Sporoderm stratification: the “medine”, a distinct third layer in the pollen wall. **Pollen et Spores** 5: 17-39.

SAJO, M. G.; FURNESS, C. A.; PRYCHID, C. J. & RUDALL, P. J. 2005. Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. **Grana** 44(2): 65–74.

SAJO, M. G., LONGHI-WAGNER, H., & RUDALL, P. J. 2007. Floral development and Embryology in the early-divergent Grass Pharus. **International Journal of Plant Science** 168(2): 181-191.

SAJO, M.G., FURNESS, C.A. & RUDALL, P. J. 2009. Microsporogenesis is simultaneous in the early-divergent grass *Streptochaeta*, but successive in the closest grass relative, *Ecdeiocolea*. **Grana** 48(1): 27-37.

SANNIER, J., NADOT, S., FORCHIONI, A., HARLEY, M. & ALBERT, B. 2006. Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen. **Botanical Journal of the Linnean Society** 151(1): 93-102.

SARTORI, J. S. S. 2008. **Desenvolvimento Floral em *Vriesea carinata* Wawra (Tillandsioideae – Bromeliaceae)**. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

SCOTT, R. J., SPIELMAN, M. & DICKINSON, H. G. 2004. Stamen structure and function. **The Plant Cell** 16: S46-S60.

SHIVANNA, K. R. 2003. **Pollen biology and biotechnology**. Science Publishers, Inc. Enfield.

SMITH, L. B. & DOWNS, R. J. 1974. **Pitcairnioide (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica 14 Hafner Press, New York.

SMITH, L. B. & DOWNS, R. J. 1977. **Tillandsioideae (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica 14 Part 2 Hafner Press, New York.

SMITH, L. B. & DOWNS, R. J. 1979. **Bromelioideae (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica 14 Part 3 Hafner Press, New York.

SOUTHWORTH, D. 1973. Cytochemical reactivity of pollen walls. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry** 21(1): 73-80.

TERYOKHIN, E. S., BATYGINA, T. T. & SHAMROV, I. I. New approach to classifying modes of microsporangium wall formation. Pp. 32-39. In **Embryology of flowering plants- Terminology and concepts** (BATYGINA, T. B. 2002) v 1. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd (ed). New Dheli.

TOMLINSON, P. B. 1969. **Anatomy of the monocotyledons -III. Commelinales-Zingiberales**. Oxford University Press, New York.

TUCKER, S. C. 1996. Trends in evolution of floral ontogeny in *Cassia sensu stricto*, and *Chamaecrista* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassiinae); A study in convergence. **American Journal of Botany** 83: 687-711.

TUCKER, S. C. 1997. Floral evolution, development, and convergence: the hierarchical significance hypothesis. **International Journal of Plant Sciences** 158(6): 143-S161.

VENTURELLI, M. & BOUMAN, F. 1986. Embryology and seed development in *Mayaca fluviatilis* (Mayacaceae). **Acta Botanica Neerlandica** 35: 497-516.

VENTURELLI, M. & BOUMAN, F. 1988. Development of ovule and seed in Rapateaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 97(3): 267-294

VERVAEKE, I., PARTON, E., DERROOSE, R. & DE PROFT, M. P. 2002. Pollen tube growth and fertilization after different in vitro pollination techniques of *Aechmea fasciata*. **Euphytica** 124(1): 75-83.

VERVAEKE, I., LONDERS, E., PIOT, G., DERROOSE, R. & DE PROFT, M. P. 2005. The division of the generative nucleus and the formation of callose plugs in pollen tubes of *Aechmea fasciata* (Bromeliaceae) cultured in vitro. **Sexual Plant Reproduction** 18(1): 9-19.

WEISS, H. E. 1965. Étude caryologique et cyto-taxinomique de quelques broméliacées. **Mémoires du Muséum National d'histoire Naturelle** 16: 9-38.

WENDT, T., CANELA, M.B.F., DE FARIA, A.P.G. & RIOS, R.I. 2001. Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany** 88(10): 1760-1767.

ZAVADA, M. S. 1983. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trend of apertures and wall structures. **Botanical Review** 49(4): 33-379.

ZONA, S. 2001. Starchy Pollen in Commelinoid Monocots. **Annals of Botany** 87(1): 109-116

Fig.1. 1A. Aspecto geral do indivíduo de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM., em São Sepé, RS.



Fig. 2. Formação dos estratos parietais da antera de *Tillandsia aeranthos*. 2A. Aspecto geral do botão floral com as seis anteras tetrasporangiadas e carpelos. 2B. Antera com formato elíptico, com camada protodérmica (p), subdérmica (s) e central (c), e divisão na camada subdérmica (seta). 2C. Antera bilobada mostrando as camadas protodérmicas(p), subdérmica(s) e central(c). 2D. Aspecto geral da antera na formação dos esporângios. 2E. Camada parietal primária (seta branca) e inicial esporogênica (seta preta) formada. 2F. Camada parietal primária dividida (cpp) em externa (seta branca) e interna (seta preta). 2G. Camada parietal externa (seta preta) e camada parietal interna (seta branca) divididas. 2H. Camada parietal secundária externa se diferencia em endotécio (seta) 2I. Camada parietal secundária interna se divide em camada média e tapete (seta). Barra de escala: 200µm (2A), 100µm (2B, 2C, 2D), 50µm (2G, 2H, 2I), 20µm (2E, 2F).

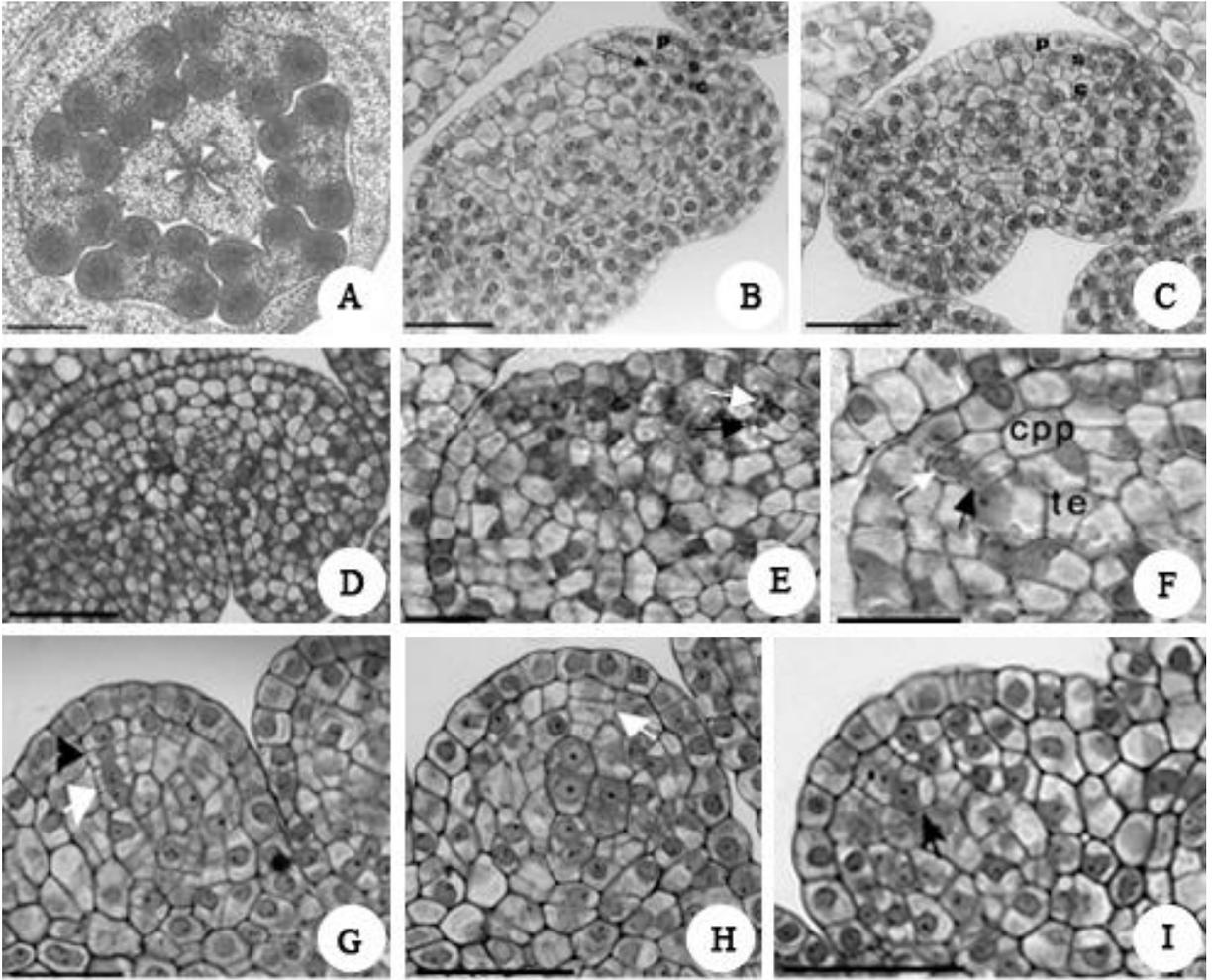


Figura 3. Tecidos da antera de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 3A. Estratos parietais formados (ep-epiderme; en-endotécio; cm-camadas médias; t-tapete. Notar camada média alongada tangencialmente. 3B. Presença de celulose no espessamento do endotécio e na parede celular da epiderme. Notar célula da epiderme papilada na fase de grão de pólen bicelular. 3C. Células na linha estomial (seta). 3D-3E. Espessamento do endotécio em forma de 'U'. 3F – 3G. Tapete binucleado com divisões acitocinéticas. Notar núcleo volumoso na célula tapetal. 3H. Células tapetais binucleadas com até três nucléolos (seta). Tapete com células alongadas radialmente. 3I. Células tapetais na fase de tétrades (com calose dissolvida). Detalhe da célula da epiderme (seta) 3J. Células tapetais degeneradas na fase de andrófito bicelular. Barra de escala: 50µm (3A, 3B, 3C, 3D, 3E), 20µm (3F, 3G).

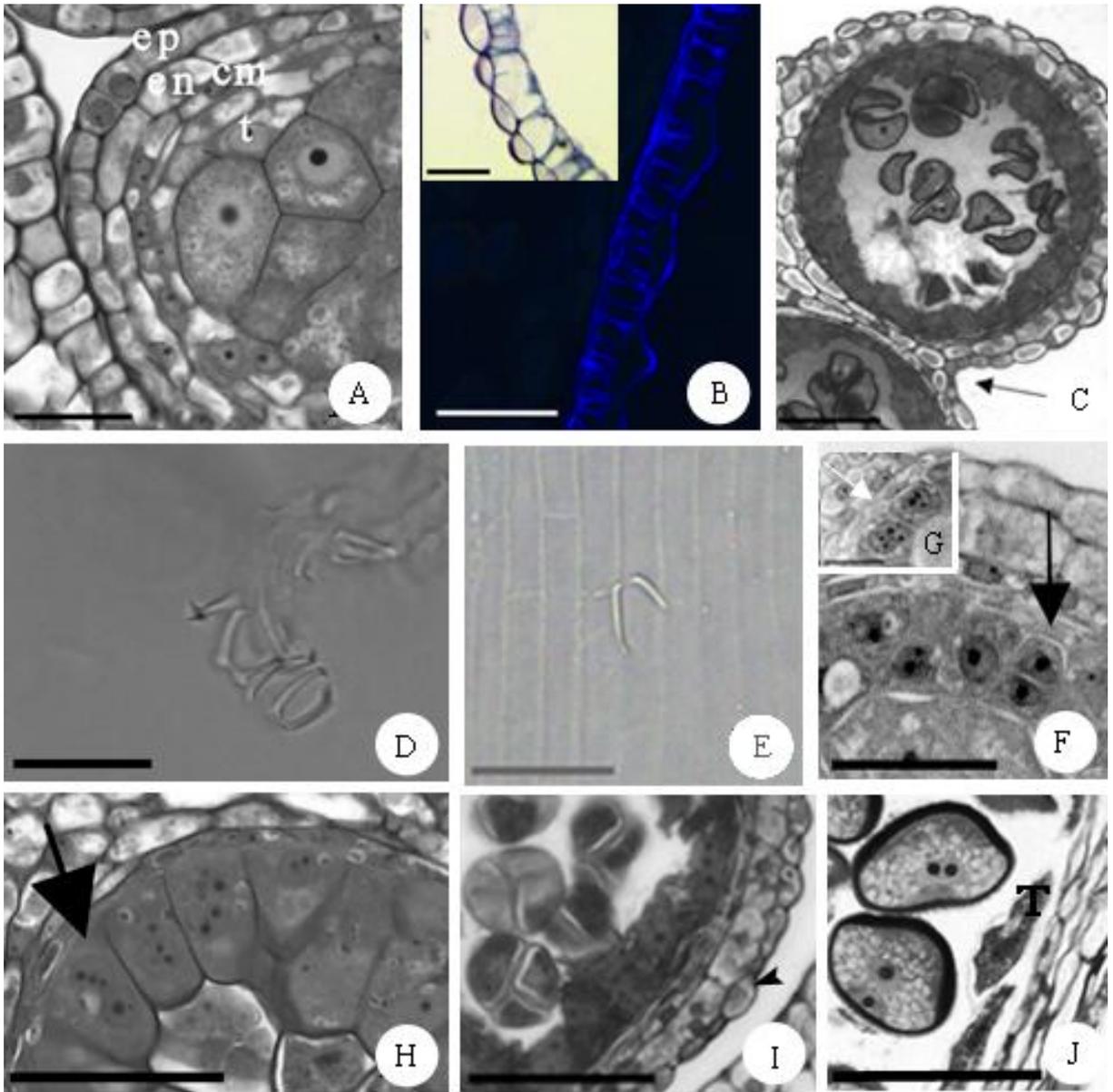


Figura 4. Androsporogênese de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 4A. Célula-mãe de andrósporo em secção longitudinal. Notar Células tapetais vacuoladas. 4B. Célula-mãe de andrósporo (CMA) com núcleo e nucléolo volumoso. 4C. CMA com canais citomíticos (setas). 4D CMA com calose nos vértices, evidenciado por Azul de Anilina. 4E. Prófase. 4F. Metáfase. 4G. Telófase. 4H. Divisão centrífuga do citoplasma. 4I. Díade com presença de calose. 4J. Tétrade isobilateral com presença de calose. 4K. Tétrade decussada com calose. Barra de escala: 100µm (4A), 50µm (4B, 4D, 4E, 4F, 4G, 4H, 4I, 4J), 20µm (4C)

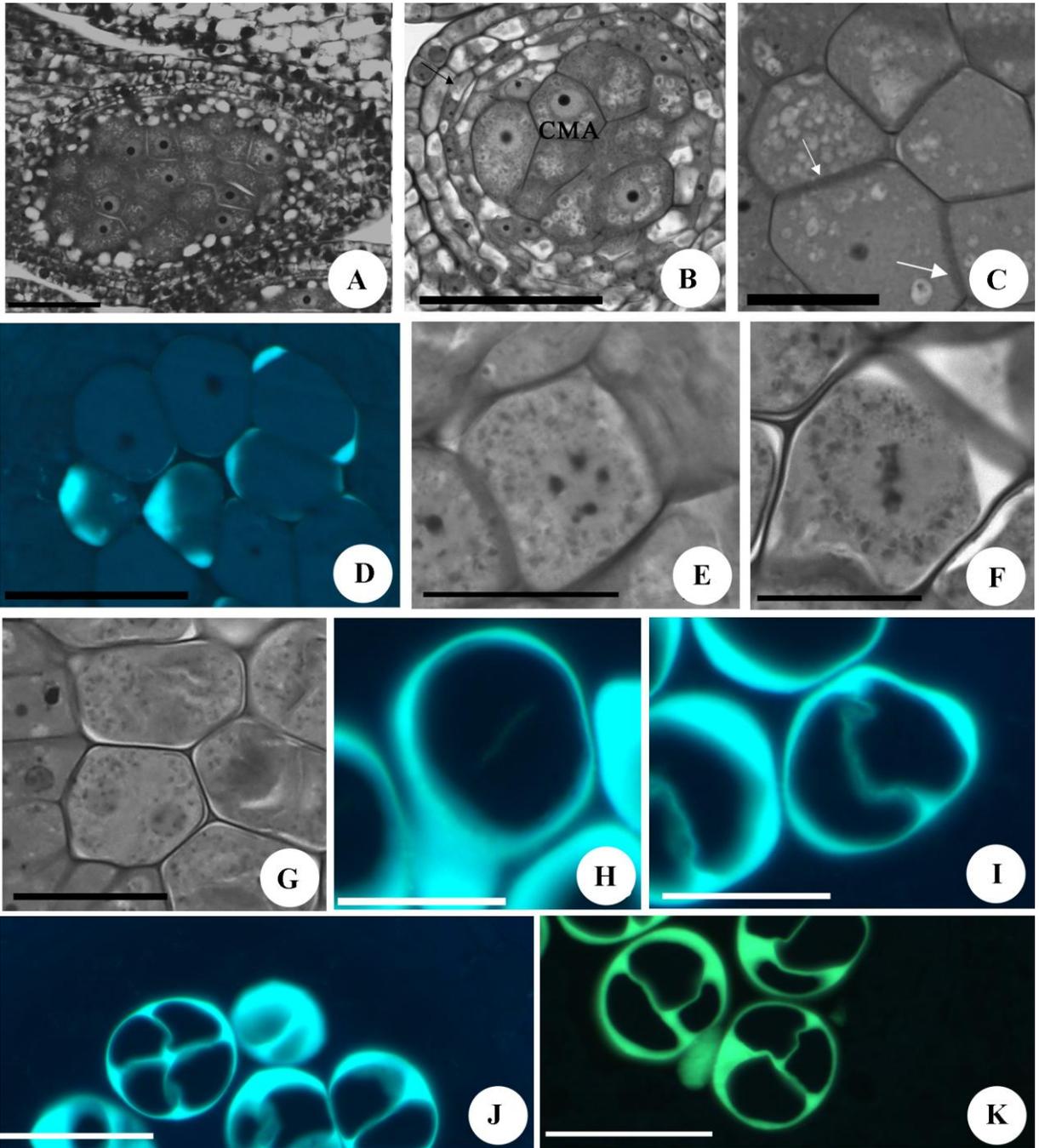


Figura 5. Androgametogênese e Andrófito de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 5A. Tétrade andrósporo com a formação de primexina (seta). 5B. Andrósposos recém liberado da tétrade com inicio da formação da intina (seta branca) e exina (seta preta). 5C. Exina do andrófito maduro (seta preta) e intina (seta branca). 5D. Andrósposos vacuolados. 5E. Andrófito com presença de uma fina camada de intina. 5F. Andrófito com a célula generativa (seta branca) e núcleo da célula vegetativa (seta preta). 5G. Andrófito com parede de calose (seta) separando as duas células, evidenciada com Azul de Anilina. 5H. Célula generativa (seta) sendo englobada pelo citoplasma da célula vegetativa. 5I. Célula generativa (seta) e núcleo da célula vegetativa próximas. v – vacúolos. Barra de escala 50  $\mu\text{m}$  (5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 5F, 5G), 20 $\mu\text{m}$  (5H, 5I).

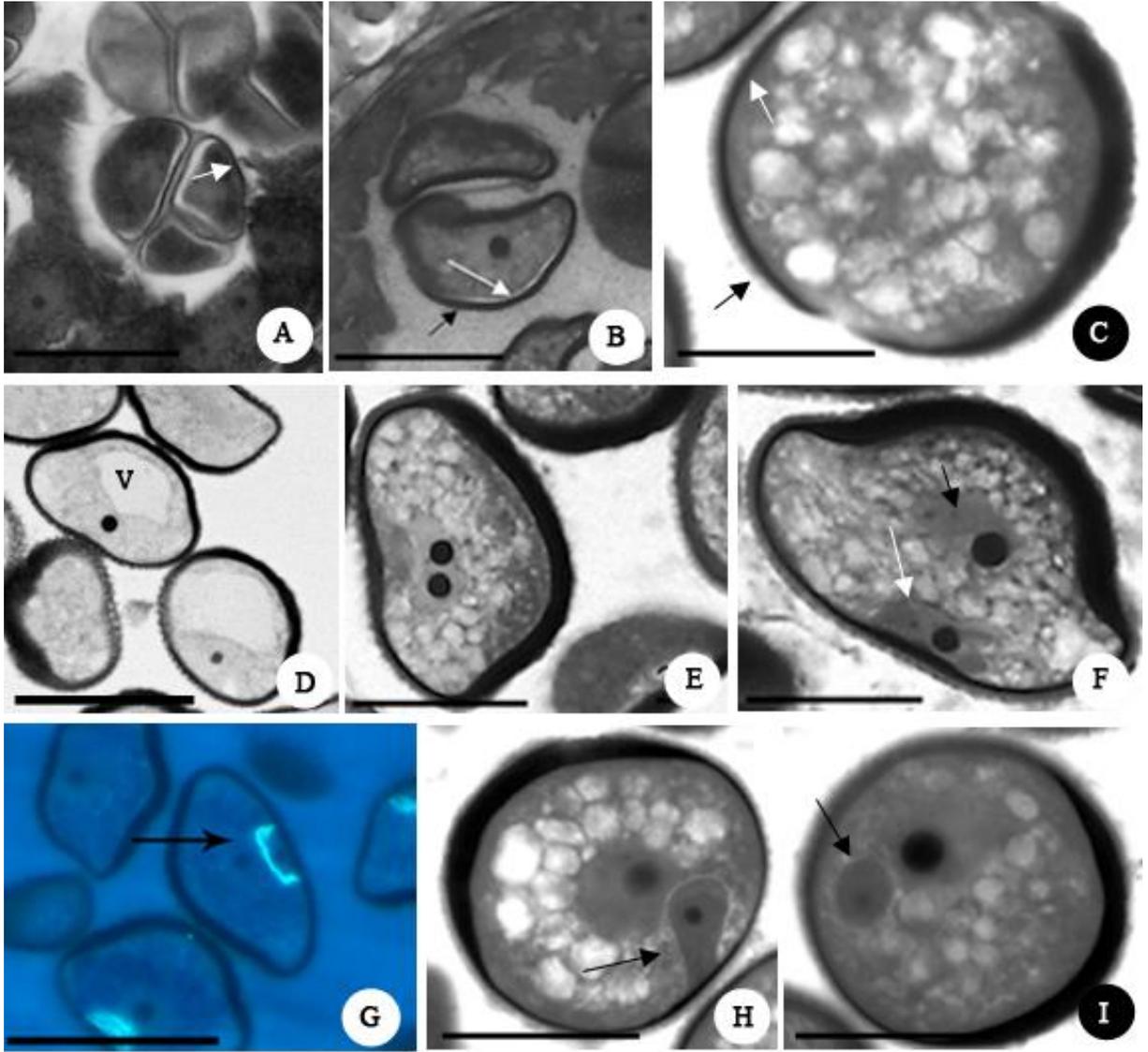


Fig. 6. Andrófito de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 6A. Aproximação da célula generativa (seta preta) e núcleo da célula vegetativa (seta branca), para formação da unidade germinativa. 6B. Teste com PAS, indicando presença de polissacarídeos no citoplasma da célula vegetativa. 6C. Teste com Sudam III, indicando a presença de lipídios na esporoderme. 6D. Imagem em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Esporoderme com exina reticulada. 6E. Imagem em MEV. Detalhe da exina. 6F. Teste com Azul de Alcian, identificando a intina. 6G. Teste de fuscina básica marcando a esporoderme. 6H. Teste com Azul de Coomassie, identificando proteínas associadas a esporoderme. Barra de escala de 20  $\mu\text{m}$  (6A, 6C, 6G, 6H, 6I), 50  $\mu\text{m}$  (6B).

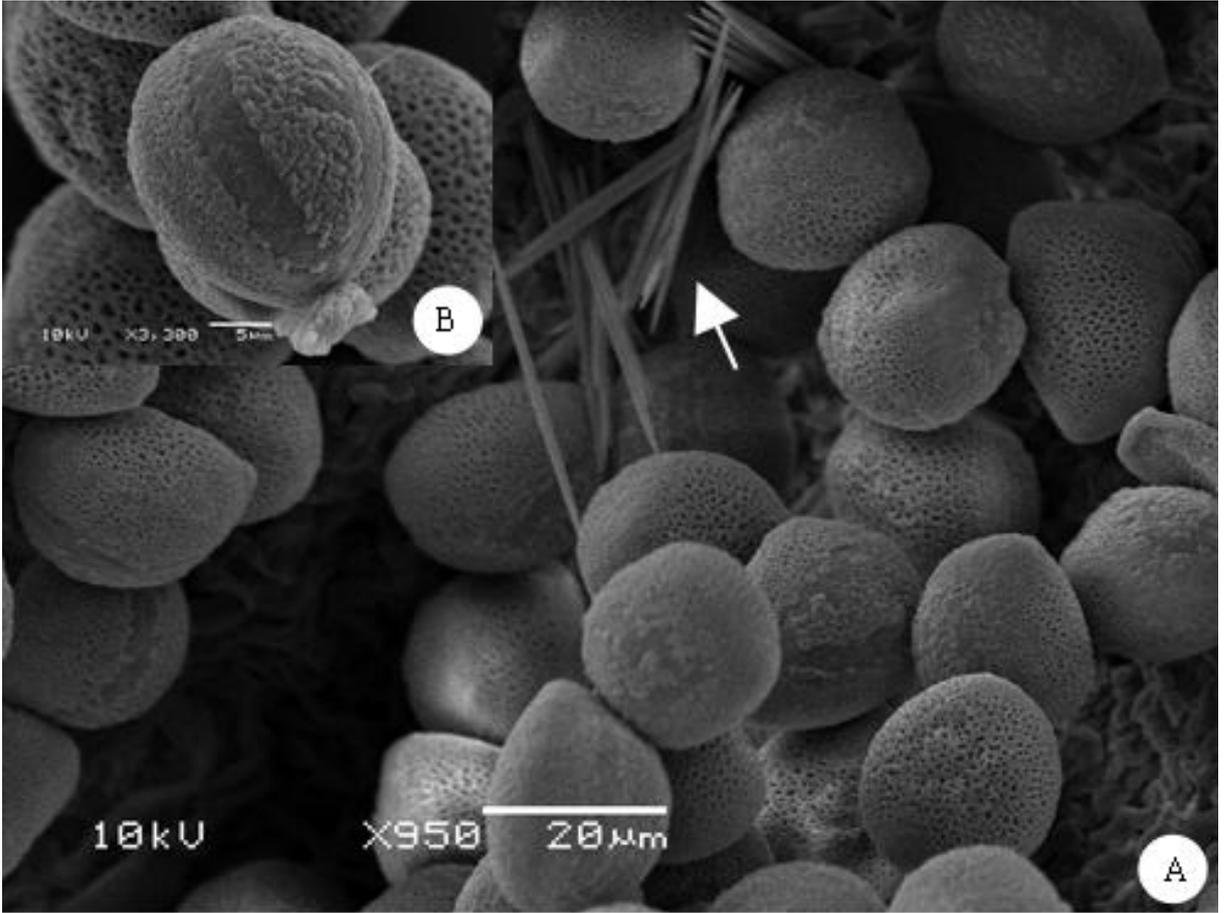


Figura 7. Eletromicrografias em Microscopia eletrônica de varredura do andrófito de *Tillandsia aeranthos*. 7A. Andrófitos dentro da antera e presença de ráfides (seta) na parede da antera. 50. Abertura sulcada do andrófito.

**ARTIGO II****ONTOGENIA DO RUDIMENTO SEMINAL DE *TILLANDSIA AERANTHOS*  
(LOIS.) L. B. SM. (TILLANDSIOIDEAE-BROMELIACEAE)**

**(Artigo foi redigido de acordo com as normas para autores do periódico “Acta Botânica Brasileira”).**

**Ontogenia do rudimento seminal de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm.  
(Tillandsioideae-Bromeliaceae)**

Cristiele Spat<sup>12</sup>, Jaqueline Sarzi Sartori<sup>3</sup>, João Marcelo Santos de Oliveira<sup>4</sup>

---

<sup>1</sup> Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia. Laboratório de Botânica Estrutural, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, nº1000, Prédio 16, sala 3123, 97105-900, Santa Maria, RS.

<sup>2</sup> Autor para correspondência: crispat6@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Laboratório de Botânica Estrutural, Universidade Federal de Santa Maria.

<sup>4</sup> Professor Adjunto, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria.

**Resumo** – (Ontogenia do rudimento seminal em *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm. (Tillandsioideae-Bromeliaceae). O rudimento seminal de *Tillandsia aeranthos* é anátropo, bitegumentado e crassinucelado, com placentação axial. O rudimento seminal tem origem na camada subdérmica da placenta. Os tegumentos são de origem dérmica. A inicial arquesporial dá origem á célula mãe de ginósporo (CMG). A CMG sofre o primeiro ciclo meiótico que origina uma díade de ginósporo com presença de calose ao redor. O segundo ciclo meiótico dá origem a tétrede linear de ginósporo, tornando-se o ginósporo calazal funcional. O ginósporo funcional diferencia-se em um gametófito uninucleado que após mitoses origina um gametófito bi e tetranucleado. Esse tipo de desenvolvimento do ginófito é do tipo monospórico e *Polygonum*, onde o ginófito apresenta sete células e oito núcleos, com a presença de duas sinérgides, uma oosfera, formando o aparelho oosférico e três antípodas. Os núcleos polares de fusionam antes da fecundação. Há presença do aparelho fibrilar no aparelho oosférico.

Palavras-chave: rudimento, ginospogênese, ginogametogênese, ginófito, embriologia.

**Abstract:** (Ovule ontogeny in *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. Sm. (Tillandsioideae-Bromeliaceae). The ovule of *Tillandsia aeranthos* is anatropus, bitegmic and crassinucellate, with axial placentation. The ovule originates in the subdermal layer (zone II) of the placenta. The integument originated by divisions in the dermal layers. One to three ginospore mother cells, originatd by divisions in archesporial cell, undergo meiotic divisions develop a linear tetrad, with presence callosic wall. Only the chalazal ginospore becomes functional. The functional ginospore differs in that a gametophyte uninucleate after mitosis and yields a two-nucleate and four-nucleate gametophyte. The female gametophyte has a monosporic origin and a *Polygonum*-type development. The female gametophyte consists of the two synergids, an egg cell, three antipodes and two polar nuclei. Polar nuclei fuse prior to fertilization. Presence of the filiform apparatus

Keywords: ovule, ginospogogenesis, ginogametogenesis, female gametophyte, embryology.

## Introdução

Bromeliaceae é uma família neotropical com espécies distribuídas geograficamente nas Américas do Sul e Central, com exceção de *Pitcairnia feliciana* (A. Chevalier) Harms & Milbraed, que ocorre na África Ocidental (Jacques-Félix 2000). Nesta família estão incluídos 58 gêneros e 3140 espécies (Givnish *et al.* 2011). Bromeliaceae apresenta uma bem sucedida radiação adaptativa, compreendendo espécies terrestres e epífitas, ocorrendo em ambiente tropical e desértico (Benzing 2000; Dillon 1991).

Segundo o APG III (2009), a família Bromeliaceae pertence à ordem Poales, ocupando uma posição basal dentro da ordem. Estudos filogenéticos sustentam a monofilia de Bromeliaceae (Chase *et al.* 1995; Barfuss *et al.* 2005, Givnish *et al.* 2011) Tradicionalmente eram reconhecidas três subfamílias: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae (Smith & Downs 1974). Porém, por recentes estudos moleculares o número de subfamílias foi ampliado para oito: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae (Givnish *et al.* 2007). Esse arranjo proposto confirmou a monofilia das subfamílias Tillandsioideae e Bromelioideae e resolveu a parafilia de Pitcairnioideae com a proposição das cinco novas subfamílias. Em recente estudo sobre filogenia de Bromeliaceae, Givnish *et al.* (2011) sugere que seja abandonado a classificação dessas três tradicionais subfamílias, porém, no Brasil, as subfamílias que ocorrem naturalmente são Tillandsioideae, Bromelioideae e Pitcairnioideae (Smith & Downs 1974, 1977, 1979).

Em se tratando de aspectos embriológicos, poucos são os trabalhos que abordam o gênero *Tillandsia*, podendo ser citados os trabalhos de Papini *et al.* (2010), Brighigna *et al.* (2006), Sajo *et al.* (2004a) e mais recentemente, Fagundes & Mariath (2010).

Trabalhos filogenéticos que utilizam caracteres morfológicos, anatômicos vem sido realizados para monocotiledôneas (Chase *et al.* 1995, 2006) como também em Bromeliaceae. Estudos morfológicos sobre sementes (Fagundes & Mariath 2010), tipos de estigmas (Brown & Gilmartin 1989), apêndices petalares (Brown & Terry 1992) foram realizados com enfoque filogenético dentro de Bromeliaceae. Tillandsioideae e juntamente com Bromelioideae apresentam problemas de posição de gêneros, apesar de já estar bem suportado que Tillandsioideae apresenta um clado monofilético (Barfuss *et al.* 2005; Givnish *et al.* 2010). Muitos foram os trabalhos que contribuíram para a sistemática das subfamílias, podendo ser citados, os trabalhos de Terry *et al.* (1997), Horres *et al.* (2000), Barfuss *et al.* (2004), além de trabalhos de filogenia de Bromeliaceae e suas relações com as monocotiledôneas (Gilmartin &

Brown 1987; Sajo *et al.* 2004) e sua relação com as Poales (Linder & Rudall 2005; Givnish *et al.* 2010) e trabalhos de relação filogenética e estratégias reprodutivas utilizando microssatélites também foram realizados (Barbará *et al.* 2009). Análises sobre o desenvolvimento do ginogametófito tem sido usado em estudos filogenéticos podendo ser mencionados o trabalho de Linder & Rudall (1993).

Alguns trabalhos sobre características de cromossomos foram realizados como o de Gitaí (1965) a fim de estabelecer relações filogenéticas nas subfamílias. Mesmo com avanços nesta área, a delimitação de gêneros tem sido bastante discutida (Givnish *et al.* 2011), incluindo *Tillandsia*. Em relações a filogenia e o uso de caracteres morfológicos, Barfuss *et al.* (2004) já colocava que espécies monofiléticas, apresentam diferenças quanto a posição do ovário, fruto, semente, pólen e estigma, além disso, Gilmartin & Brown (1986) fizeram inferência sobre a evolução de subgêneros de espécies de diferentes ambientes.

Apesar desses avanços, novos trabalhos de morfologia e anatomia podem resultar em mudanças ou adições a nível genérico (Barfuss *et al.* 2004). Estudos revelam que Tillandsioideae é um grupo monofilético (Terry *et al.* 1997a,b) e caracteres morfológicos como sementes, nectários e rudimentos seminais provém uma gama de dados comparativos dentro dessa subfamília. Nesse sentido, podemos observar que estudos que revelam a ontogenia das estruturas reprodutivas proporcionam importantes dados morfológicos que podem ser relacionados á filogenia dentro da família.

Este estudo teve por objetivo acompanhar o desenvolvimento, analisar e caracterizar o rudimento seminal de *Tillandsia aeranthos*. Além disso, contribuir para a taxonomia e filogenia da Tillandsioideae.

## **Material e Métodos**

Foram coletadas inflorescências com botões florais em diferentes estádios do desenvolvimento de *Tillandsia aeranthos*, nos municípios de Santa Maria e São Sepé, RS. As coletas ocorreram nos meses de junho a agosto dos anos de 2010 e 2011. Testemunho desse material foi depositado no herbário SMDB do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, sob o número 12.950.

Os botões florais, antes de fixados, foram dissecados sob microscópio estereoscópio Olympus SZH10, sendo preservados apenas os ovários e estames. O material foi fixado em

glutaraldeído 1% e paraformaldeído 4% (McDowell & Trump 1976). Após a fixação, o material foi submetido a vácuo por 6 horas.

### Material para microscopia Óptica

Após fixados, o material botânico, foi lavado em tampão fosfato de sódio 0,1M pH7,2 (Gabriel 1982) duas vezes, por 15 minutos cada etapa. Após, foi lavado uma vez em água destilada e uma vez em Tween 20%, por 15 minutos. Posteriormente, foi desidratado em série etílica ascendente (10, 30, 50, 70, 90, 100%), 15 min cada etapa. Posteriormente, seguiu a desidratação em soluções de clorofórmio e etanol absoluto (1:3, 1:1, 3:1, 1:1, 1:3), finalizando a desidratação com uma etapa de etanol absoluto. O material foi pré-infiltrado com uma solução 1:1 de hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid 1983) e etanol absoluto durante o período de 12h, seguido de infiltração em hidroxietilmetacrilato por cerca de 12h e embocado com esta resina em suporte de Teflon até sua polimerização (Gerrits & Smid 1983). As secções, nas espessuras de 2 a 8µm, foram feitas em micrótopo de rotação Leica RM2245. O corante padrão utilizado foi Azul de Toluidina O 0,05% pH 4.4 (Feder & O'Brien 1958). As observações foram realizadas em microscópio Olympus BX21 e Leica DM 2000. As fotomicrografias foram obtidas com emprego de captura digital DFC295 acoplado ao microscópio Leica DM2000, do Laboratório de Botânica Estrutural do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria.

### Testes Histoquímicos

Testes histoquímicos foram realizados com Azul de Anilina, na concentração 0,1% em tampão fosfato (pH 8,5), para detecção de calose (Martin 1959).

As observações e fotomicrografias para o teste de azul de anilina e calcofluor foram realizadas no foram realizadas em microscópio Leica DMR-HC e Olympus BX 41, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Os demais foram no Leica DM2000, no Laboratório de Botânica Estrutural do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria.

## Resultados e Discussão

### Gineceu

*Tillandsia aeranthos* apresenta ovário súpero, gamocarpelar, tricarpelar e trilocular, sendo cada carpelo com vários rudimentos (Fig. 1A). Essas observações estão de acordo com outras espécies de Bromeliaceae estudadas (Sajo *et al.* 2004 a, b, Conceição *et al.* 2007). O número de rudimentos por lóculo pode variar de um a várias por lóculo (Igersheim *et al.* 2001), sendo que em Bromeliaceae, é constante vários rudimentos por lóculos, chegando de 15-20, como demonstrado por Wee & Rao (1974) para *Ananas Comosus*.

### Desenvolvimento do rudimento seminal

Os rudimentos seminais surgem como primórdios de posição axial, como classificação do local de sua inserção ou, usualmente, placentação, a partir de uma massa celular com características meristemáticas (Fig 1B). De maneira geral, e aparentemente, o processo de iniciação dos rudimentos se dá pelo aumento de densidade citoplasmática na região placentária, seguido de crescimento radial, principalmente das células da camada subdérmica nos locais de origem (Fig 1C). Em *Papaver rhoeas* (Cass & Fabi 1990), se percebe o alongamento radial das células da camada subdérmica, seguido de divisões periclinais. Cabe salientar que de maneira geral, em relação a literatura que trata da formação inicial do rudimento seminal, as divisões são consideradas como o passo inicial para a formação do primórdio do rudimento seminal, embora no presente estudo se enfatize que o alongamento radial seja uma etapa anterior na morfogênese dos primórdios. Tal alongamento radial acaba sendo, portanto, o fator morfogenético inicial para a delimitação dos primórdios no tecido placentário. Tal processo de diferenciação celular ocorre através, também, do aumento de densidade citoplasmática na região de iniciação do órgão. Tal aspecto de desenvolvimento foi descrito por Oliveira (2001) e Oliveira e Mariath (2001) na formação inicial de primórdios de estames em *Anacardium occidentale* e *Spondias mombin*, respectivamente, ambas pertencentes a Anacardiaceae. Na camada protodérmica o alongamento radial é condicionado, aparentemente, a um maior espaço para as células crescerem; assim, naquelas regiões onde ocorre contato da região protodérmica com a epiderme locular não se percebe tal alongamento radial, embora, em tais regiões, a camada subdérmica, como já citado, apresenta crescimento radial típico (Fig. 1D). A semelhança do descrito para a camada subdérmica, na camada dérmica o aumento de densidade

citoplasmática é típico. Na terceira camada da região de iniciação do rudimento seminal não se observa maior densidade citoplasmática, e o alongamento radial não é observado (Fig. 1E). Logo após o processo de alongamento radial se observa divisões periclinais em algumas células da camada subdérmica (Fig 1D, 1E, 1F). Em alguns casos se percebe algumas divisões acitocinéticas, onde foram observadas duas situações que complementam a observação, como casos onde foram observados núcleos compartilhando o mesmo espaço citoplasmático (Fig. 1F) e, em outros primórdios de rudimento seminal, foi observado, em posições similares células com núcleo mais volumoso em relação às células vizinhas (Fig. 1G). Assim, se especula que eventualmente, seguido à divisão acitocinética, ocorra fusão nuclear. Trabalhos complementares para confirmar os eventos acima descritos, através do emprego de DAPI e Feulgen, devem ser realizados. Cabe salientar, que a confirmação de tais informações é importante em função das consequências para a compreensão da ploidia para embrião e endosperma após a dupla fecundação.

A intervalos regulares se observa que o processo de diferenciação descrito acima é diferente, sendo típico a ausência do crescimento celular radial que foi enfatizado como iniciador do processo de construção do rudimento seminal. Através deste processo se percebe a modulação do processo de morfogênese que gera o crescimento individualizado dos rudimentos seminais.

A sequencia do processo de desenvolvimento dos primórdios dos rudimentos seminais (Fig.1H) revela divisões periclinais, anticlinais e oblíquas, nas derivadas da camada subdérmica (Fig. 1I e 1J). Na região terminal é usual divisões anticlinais e periclinais e nas derivadas mais profundas divisões oblíquas e transversais. Nos primórdios com comprimento de cinco a sete células, considerando apenas células derivadas da camada subdérmica, já se observa início de diferenciação de tecido provascular, de posição central no primórdio, o qual possui continuidade com o tecido provascular mais profundo, vinculado a vascularização da região placentária. A percepção de tal continuidade tissular se dá pelo padrão de crescimento e divisão celulares. Tal continuidade tissular, aparentemente ocorrido pela indução do tecido provascular mais profundo, pode gerar confusão para análise da origem do primórdio do rudimento, pois nesses casos, a continuidade tissular pode induzir a percepção de que tecidos mais profundos, que a camada subdérmica, atuam na produção de células que constroem tal primórdio.

A literatura recente, usualmente, apresenta classificação para o modo de construção dos rudimentos seminais. Assim, em *Tillandsia aeranthos* os primórdios podem ser classificados como bizonados, conforme Bouman (1984), ou tipo 'B' conforme Kordyum

(1968), em função da atividade mitótica relacionada a formação inicial do órgão estar vinculada exclusivamente, ou quase exclusivamente, a camada placentária subdérmica. Estudos com espécies de Poaceae, família que também pertence a Poales, grupo a qual pertence Bromeliaceae, revelam que o desenvolvimento inicial é bizonado (Nakamura *et al.* 2009), ou tipo 'B'. Em Rapateaceae, família próxima a Bromeliaceae, foi demonstrado que o rudimento seminal em sua origem também é bizonado. Em Bromeliaceae, *Dyckia pseudococcinea* L.B. Smith (Conceição *et al.* 2007) e *Vriesea carinata* (Sartori 2008) apresentam rudimentos seminais descritos como trizonados.

Dados sobre o desenvolvimento inicial do rudimento seminal são importantes, pois a maioria dos estudos não abordam tais aspectos (Bouman 1984), os quais podem constituir uma fonte relevante de informação quando estabelecidas comparações entre os táxons, demonstrando como estes tem se modificado filogeneticamente (Sartori 2008). Bouman (1984) comenta que uma questão a ser resolvida estaria relacionada a possibilidade de um rudimento seminal bizonado dar origem a um rudimento seminal crassinucelar. Assim, a presente análise estrutural, da formação do primórdio do rudimento seminal em *T. aeranthos*, permite concluir que não existe uma relação fixada entre modo de formação inicial e diferenciação posterior do nucelo.

No primórdio do rudimento seminal, na camada subdérmica, uma célula, raramente duas células, inicial se diferencia, apresentando um citoplasma denso, não vacuolado e um núcleo volumoso (Fig. 2A e 2B). Nos casos onde se observam duas células iniciais, aparentemente, apenas uma segue o padrão de diferenciação que irá culminar na derivação de um único meiócito; tal consideração se deve ao fato de não terem sido observados eventos posteriores de diferenciação, como por exemplo, formação de dois grupos de ginósporos ou ocorrência de mais de um ginófito em um mesmo nucelo. Após, a célula inicial se divide periclinalmente e forma uma derivada externa, a qual irá contribuir com a camada parietal primária e uma derivada interna que irá se diferenciar em célula arquesporial (Fig. 2C).

Durante a esporogênese as células da camada parietal primária se dividem, usualmente, mais uma vez no sentido transversal, culminando com a formação de duas camadas subdérmicas entre a epiderme nucelar e célula esporogênica, que irá culminar na construção de um rudimento seminal crassinucelado. Lateralmente, a proliferação celular também é pouco expressivo, sendo comum duas camadas de células entre epiderme e célula arquesporial. Também é comum a divisão oblíqua de células subdérmicas, principalmente na região dorsal. De maneira geral, o incremento de células nucleares é baixo.

A célula arquesporial formada se desenvolve em uma célula-mãe de ginósporo (CMG), a qual apresenta características estruturais diferenciais no esporângio, como crescimento, direcionamento de tal crescimento, e polarização do núcleo que, pelo que foi observado ocorre no polo micropilar. A célula-mãe de ginósporo apresenta características estruturais diferenciais no esporângio, e acompanha o crescimento do esporângio através de alongamento, além disso, a posição micropilar da CMG se mostra como outro indício da polarização da referida célula. A condição crassinucelado é comum na maioria das espécies de Bromeliaceae (Sajo *et al.* 2004a). Confirmado nos estudos com *Lindmania penduliflora* (Lakshmanan 1967), *Ananas comosus* (Wee & Rao 1974, Rao & Wee 1979), *Catopsis paniculata* (Palací *et al.* 2004), *Dyckia pseudococcineae* (Conceição *et al.* 2007), *Vriesea carinata* (Sartori 2008) e também em espécies de *Tillandsia* (Papini *et al.* 2010), inclusive *Tillandsia aeranthos*. Estes estudos estão de acordo com o que foi citado para a família por Johri *et al.* (1992). O rudimento pseudocrassinucelado foi observado em Poaceae, família também pertencente a Poales e algumas monocotiledôneas basais (Endress & Igersheim 2000). Assim como o tenuinucelado foi encontrado em várias famílias de Poales (Rudall *et al.* 2005, Scatena & Bouman 2001; Venturelli & Bouman 1986; Rudall 1997). Já em Rapateaceae (Venturelli & Bouman 1988) e Thyphaceae (Graef 1955; Asplund 1972, 1973), as espécies estudadas apresentam o tipo crassinucelado que, segundo Sporne (1969) é o tipo encontrado nas angiospermas primitivas, o que leva a concluir que é o tipo ancestral. O mesmo foi confirmado para as monocotiledôneas por Lowe (1961), demonstrando que esse é o tipo comum entre as monocotiledôneas primitivas. Além disso, Lowe (*op.cit.*) coloca que vários rudimentos por lóculo e curvatura anátropa também são caracteres primitivos.

Confirmando estes dados, Rudall (1997) demonstra que monocotiledôneas apresentam este tipo de rudimento. Dentro deste contexto, Sajo *et al.* (2004a), coloca que esta seria uma característica plesiomórfica dentro de Poales, pois ocorre em membros basais dentro da Ordem, como Bromeliaceae.

Em momento próximo a determinação das células parietal primária e arquesporial é observado o crescimento radial, sutil, de um grupo de células dérmicas e subdérmicas com localização subterminal e distribuição contínua, similar a um anel. Aparentemente, tal evento marca o início da formação do tegumento interno (Fig. 2D). Logo a seguir, são observadas divisões periclinais e oblíquas na camada dérmica, e suas derivadas, determinando a continuidade da formação do tegumento interno (Fig. 2E). A origem do tegumento externo é, aparentemente, similar, onde o crescimento celular radial é o indicador morfológico do local de diferenciação do tecido (Fig. 2E), porém, ao contrário do tegumento interno, na região

ventral não ocorre a diferenciação do tegumento externo (Fig. 2F). Assim, pode ser definido que o tegumento interno é simétrico e o tegumento externo é assimétrico. A diferenciação inicial dos tegumentos seguiu o mesmo padrão apresentado pelo próprio rudimento seminal, onde o aumento da densidade citoplasmática e crescimento radial são típicos, seguido de divisão periclinal.

Em Angiospermas, o rudimento seminal pode ser uni ou bitegumentado (Bouman 1984), sendo o bitegumentado o mais comum em angiospermas basais sendo, usualmente, considerado o mais primitivo (Johri *et al.* 1992). Davis (1966) e Sporn (1969) consideram que número de tegumentos e sua origem figuram como características embriológicas importantes. Esses tegumentos podem ser de origem dérmica ou subdérmica, sendo frequente que o tegumento interno seja de origem dérmica e não raras vezes, subdérmica (Bouman 1984). O tipo de iniciação do tegumento externo, segundo Bouman (1984), serve como caráter taxonômico a nível de família. Poucos são os trabalhos em Bromeliaceae que abordam essa característica. Podemos citar o estudo com *Vriesea carinata* (Sartori 2008), *Dyckia pseudococcinea* (Conceição *et al.* 2007) e em várias espécies de Bromeliaceae (Palací *et al.* 2004). O presente estudo foi observado que os tegumentos são de origem, predominantemente, dérmica. Nesse aspecto, Sartori (2008) demonstra que em *Vriesea carinata* o tegumento interno tem o seu início anteriormente ao externo, assim como em *T. aeranthis*. Em famílias próximas a Bromeliaceae, como Rapateaceae, o tegumento interno também é de origem dérmica e o externo de origem subdérmica, porém, iniciam ao mesmo tempo (Venturelli & Bouman 1988).

A importância da característica citológica, dada no presente estudo, para formação de órgãos e/ou tecidos se deve, aparentemente, a metodologia empregada, onde o uso de fixador a base de aldeído permitiu melhor preservação citológica em relação aos fixadores utilizados em estudos primordiais sobre o tema, os quais, usualmente, não permitem melhor preservação de características citoplasmáticas sutis entre células próximas, usualmente, irmãs e submetidas a estímulos de diferenciação similares em função de suas posições no órgão e/ou tecido considerado. Tais características são usualmente observadas na morfogênese de órgãos vegetativos como raízes laterais ou primórdios foliares, anexos epidérmicos, como tricomas secretores, ou ainda células companheiras (Evert 2006), ou outros órgãos florais (Oliveira 2000) e Oliveira & Mariath (2001), Cass & Fabi (1990), devendo ser considerado como parte do processo de identificação de células/tecidos/órgãos a partir de seus locais de origem.

Cabe salientar que a observação de sutilezas entre processos de desenvolvimento pode revelar gradação em processo evolutivo tanto em relação a diferenciação de um dado

tecido/órgão e/ou a aplicação de tal resultado em considerações taxonômicas ou filogenéticas, sendo útil para exemplificar o exposto o processo de morfogênese tegumentar descrito por Bouman & Calis (1977) como ‘integumentary shifting’, o qual acabou consagrado como terceiro caminho para a redução tegumentar. Assim, se propõem que na análise da origem dos tegumentos de outras espécies de *Tillandsia* e/ou espécies de gêneros próximos, se dê atenção ao grau de diferenciação das células e eventual compartilhamento inicial, entre tecido dérmico e subdérmico, para a construção do tegumento.

O rudimento seminal pode expressar em diversas curvaturas, como ortótropo, hemianátropo e anátropo, embora tipos intermediários ocorram (Igersheim *et al.* 2001). Alguns grupos podem apresentar diferentes tipos de curvaturas de rudimento seminal no mesmo ovário e em diferentes rudimentos (French 1986). Em Bromeliaceae, este padrão foi descrito para *Ananas comosus*, em que o tipo anátropo e ortótropo foram encontrados no mesmo lóculo, porém, este último foi encontrado em apenas 3% dos rudimentos (Wee & Rao 1974). Segundo Bouman (1984), o tipo anátropo é o mais comum em Angiospermas. Dentro das monocotiledôneas, este tipo também foi o mais encontrado (Endress & Igersheim 2000, Igersheim *et al.* 2001). Sendo citado para Typhaceae (Greaf 1955; Asplund 1972) e Rapateaceae (Venturelli & Bouman 1988).

Dentro de Poales, todos os tipos de curvatura já foram citadas (Nakamura *et al.* 2009). O tipo de curvatura aqui encontrado e citado para a maioria de Bromeliaceae é considerado, por Sajo *et al.* (2004), um caráter plesiomórfico.

Após, a CMG inicia a meiose (Fig. 3A – 3B), formando ao final da primeira etapa duas células iguais compondo a díade de ginósporos, as quais são separadas por uma parede celular que, logo a seguir, recebe incremento de calose (Fig. 3C - 3D). Logo após, na meiose II, observa-se o ginósporo calazal se dividindo antes do micropilar e é formada uma tétrade de ginósporo em posição linear (Fig. 3E). A calose é depositada de forma irregular entre os ginósporos, tendo sido observado mais calose nas paredes laterais (Fig. 3F-3G) em relação às transversais, sendo também, menor a quantidade de calose nas paredes do ginósporo calazal que acaba se tornando funcional. Em relação ao observado, no presente trabalho para *T. aeranthis*, pode-se afirmar que a esporogênese é do tipo monospórica.

O ginósporo calazal se torna o único funcional (Fig. 3F), tendo em seu processo de maturação, um conjunto de eventos relacionados a polarização da célula (Bhandari 1984).

Em Angiospermas, a ginosporigênese do tipo monospórica, bispórica e tetraspórica pode ocorrer (Johri *et al.* 1992, Russell 2001). O tipo monospórico, descrito no presente trabalho, já foi descrito para *T. aeranthis* (Papini *et al.* 2010), dentre outras Bromeliaceae

*Lindmania penduliflora* (Lakshmanan 1967), *Ananas comosus* (Rao & Wee 1979), *Vriesea carinata* (Sartori 2008). Tal padrão de desenvolvimento é o mais comum dentre as angiospermas (Johri *et al.* 1992).

A degeneração de três esporos, resultantes de meiose, é um processo comum dentre eucariontes (Papini *et al.* 2010). Em alguns casos, ou exemplos, como o descrito no presente trabalho, a não degeneração de um esporo parece estar vinculado a presença/ausência de calose nas paredes que delimitam o esporo funcional. Assim em *T. aeranthos*, no ginósporo funcional é observado menor quantidade de calose nas paredes laterais e transversal calazal, ou seja, aquela que delimita ginósporo de nucelo. Esse aspecto foi abordado por Papini *et al.* (2010) para espécies de *Tillandsia*. Papini (*op. cit.*) colocam que a sobrevivência deste único ginósporo se deve ao fato de haver menor quantidade de calose na célula calazal, sendo que os outros três ginósporos estão completamente cercados de calose. O aborto desses três ginósporos é o resultado de uma morte celular programada (PCD), tendo uma relação direta com a deposição de calose na tétrade.

Rodkiewicz (1970) já descrevia que esse tipo de processo é comum em angiospermas. Considera-se, então, que os ginósporos entram em PCD, o qual está diretamente relacionado ao depósito de calose pelas tétrades (Papini *et al.* 2010), ou conforme Bouman (1984) e Raghavan (1997). Em Bromeliaceae, além do presente trabalho com *Tillandsia aeranthos*, Sartori (2008) descreveu em *Vriesea carinata*, o depósito de calose pela tétrade, quando foi demonstrado maior acréscimo de calose no polo micropilar, sendo o ginósporo funcional também é o calazal. Nesse sentido, Bouman (1984) já colocava que o desaparecimento da calose estaria relacionado com a diferenciação do ginósporo funcional na tétrade. Isso demonstra que, em relação ao acesso a nutrientes, o ginósporo funcional é privilegiado, embora análise fisiológica ainda não tenha sido realizada para confirmar a especulação apresentada.

Observa-se, na fase de CMG, as primeiras divisões periclinais na epiderme nucelar, resultando em uma epiderme pluriestratificada, sendo que tais divisões são localizadas no terço micropilar do nucelo (Fig. 3C). As divisões não são simultâneas e pode não ocorrer o mesmo número de tais divisões em uma dada região no mesmo rudimento e em rudimentos diferentes. A espécie aqui estudada, assemelha-se a algumas monocotiledôneas que apresentam essa pluriestratificação (Johri *et al.* 1992) e a *Dyckia hebdingii* que também apresenta esta estratificação na porção apical do ginófito (Sajo *et al.* 2004a). Estratificação da epiderme nucelar também foi descrita para *Dyckia pseudococcineae* (Conceição *et al.* 2007), onde nota-se um acréscimo de camadas celulares, chegando a sete, nas porções laterais do

ginófito embora não tenha sido descrito o momento em que estas divisões tiveram início. Em *Brocchinia reducta* a epiderme nucelar apresenta porções com duas camadas celulares (Sajo *et al.* 2004a). Conceição *et al.* (2007) comentam que o acréscimo de camadas epidérmicas seria uma apomorfia de Pitcairnioideae. Porém a demonstração de estratificação da epiderme nucelar em *T. aeranthos* táxon de Tillandsioideae permite que se sugira ampliação dos estudos e reconsideração da estratificação como apomorfia para Pitcairnioideae.

O ginósporo calazal funcional aumenta suas dimensões e desenvolve-se em um ginófito uninucleado (Fig. 4A). Esse ginófito apresenta-se com um núcleo polarizado na região calazal e dois vacúolos, um ocupando o polo calazal e o outro, micropilar. Em estágio seguinte, ocorre mitose neste gametófito a qual resulta em um ginófito binucleado (Fig.4B), onde os dois núcleos se posicionam em regiões opostas da célula, com a presença de um vacúolo que ocupa a região central. Um segundo ciclo mitótico ocorre e seu produto é um ginófito tetranucleado com dois núcleos em cada pólo da célula (Fig 4C), nesta fase, também há presença de um vacúolo central, com acúmulo de substâncias pécticas. Na sequência, um terceiro ciclo mitótico ocorre, formando quatro núcleos em cada polo. Logo após, ocorre o processo de celularização de forma simultânea em cada polo. Os núcleos calazais, após celularização, estabelecem as antípodas, voltadas para o pólo calazal, onde tais antípodas apresentam apenas um núcleo e dispostas em arranjo triangular (Fig 4D). Os núcleos polares calazal e micropilar migram para a região mediana da célula central para formar, após fusão (Fig 4E, 4G), o núcleo da célula média. Após fusão, o núcleo da célula média migra em direção o aparelho oosférico (Fig. 4H).

Os núcleos micropilares, após diferenciação, formam o aparelho oosférico, com duas sinérgides e uma oosfera (Fig. 4I, 4J). As sinérgides são dispostas lado a lado, ambas com núcleo no pólo micropilar e um pequeno vacúolo no pólo calazal. As sinérgides e a oosfera se organizam em formato triangular. A oosfera apresenta-se com uma polarização inversa a das sinérgides, com o núcleo no pólo calazal e o vacúolo no pólo micropilar. As sinérgides e a oosfera possuem formato de pera, ou seja, são mais largas no polo calazal em relação ao micropilar. Com a especialização da parede celular, é formado um aparelho fibrilar na porção micropilar das sinérgides (Fig. 4J). Essa especialização ocorre entre as células e na porção que fica em contato com a extremidade mais interna da micrópila, com a presença de vilosidades nas superfícies internas do aparelho fibrilar. Naqueles ginófitos que possuem sinérgides, o tubo polínico penetra em uma das sinérgides através do aparelho fibrilar (Willemse & Went 1984), tendo a função de guiar o tubo polínico.

De maneira geral, nas Angiospermas, após o aparelho oosférico estar totalmente organizado, as células se tornam mais alongadas e ocupam boa parte do polo micropilar (Batygina 2002), tal generalização é compatível com as presentes observações em *T. aeranthis*. Como na maioria das espécies, as sinérgides e a oosfera são citologicamente distinguíveis em função da polarização típica, também observada neste estudo. Essa distinta polaridade mostra que o núcleo se encontra voltado para o polo calazal e o vacúolo para o polo micropilar. A oosfera tem a característica de não apresentar espessamento na parede celular (Russell 2001) e de modo geral as paredes celulares entre as sinérgides e a oosfera são muito delgadas ou até mesmo ausentes (Willemse & Went 1984). Em *T. aeranthis*, a parede celular entre essas células é muito tênue e de difícil visualização em microscopia óptica, ou até ausentes na região de contato entre sinérgides, oosfera e célula média. Essa ausência de parede celular, seja ela parcial ou total, foi descrita para algumas espécies e tem papel importante no processo de dupla fecundação, uma vez que os gametas masculinos são liberados em uma das sinérgides e são transferidos para a oosfera e para a célula média.

As diferenças entre a oosfera e as sinérgides também ocorrem no tamanho e na forma dos núcleos, tendo Russell (2001) citado que os núcleos nas sinérgides são bem menores e apresentam forma irregular, contrastando com a oosfera, características que não foram observadas neste estudo, pois em ambas os tipos celulares os núcleos apresentam volume e forma relativamente iguais.

As sinérgides observadas neste estudo não apresentaram sinais de degeneração e em *Vriesea carinata* (Sartori 2008) foi observado que a degeneração ocorreu após a penetração do tubo polínico. Sendo comum ocorrer a degeneração das sinérgides após a fecundação. As sinérgides podem variar em forma, tamanho e estrutura entre os taxa e exibem uma bem definida orientação. As sinérgides possuem a função de iniciar a atração do tubo polínico para o saco embrionário e ainda estão envolvidas na absorção, estoque e transferência de nutrientes das células nucleares e tegumentos para o saco embrionário (Kapil & Bhatnagar 1981).

Na célula média, os dois núcleos formados, anteriormente posicionados um no polo micropilar e outro no polo calazal, se aproximam e ficam posicionados na porção média da célula, além de sempre se encontrarem periféricos em função do grande vacúolo da célula média. Tais características apresentadas para a célula média em *T. aeranthis* são observadas na maioria das Angiospermas (Willemse & Went 1984). Após essa aproximação, os núcleos polares se fusionam originando, portanto, o núcleo da célula média. Assim, tal evento em *T. aeranthis* é anterior a fecundação. Posteriormente, o núcleo da célula média migra e se posiciona junto ao aparelho oosférico, ficando oposto a oosfera (Fig. 4F). A célula central em

*T. aeranthos* ocupa a maior parte do volume do gametófito, sendo tal característica comum nas Angiospermas (Yan *et al.* 2010). A fusão dos núcleos polares pode ocorrer de três momentos distintos, ou seja, anteriormente a fecundação, após a fecundação da oosfera ou ainda, pode ocorrer uma tripla fusão, entre o gameta masculino e os dois núcleos polares (Davis 1966). Essa fusão de núcleos polares anteriormente a fecundação é comum em outras espécies de Bromeliaceae, porém ocorrem em locais diferentes dentro da célula média. Em *Tillandsia usneoides* a fusão dos núcleos polares ocorre na região próxima às antípodas (Billings 1904), já em *Vriesea carinata* ocorre na porção mediana da célula central (Sartori 2008). Em *Ananas comosus* (Rao & Wee 1979; Wee & Rao 1974) ocorre próximo a porção da micrópila, da calaza ou ainda no centro do gametófito.

As antípodas, *T. aeranthos* permanecem viáveis até o ginófito maduro, as quais acabam ocupando todo o espaço da extremidade calazal do ginófito. Elas apresentam um núcleo conspícuo e dispõem-se de forma triangular no polo calazal do ginófito, ou seja, usualmente, apresenta uma célula ocupando a terminação da região calazal e as outras duas antípodas voltadas para a célula média. Poucas são as informações em Bromeliaceae acerca desta característica. Em *Vriesea carinata*, as antípodas permanecem viáveis até após a fecundação, assim como em espécies de Typhaceae (Asplund 1972). Rao & Wee (1979) observaram em *Ananas comosus* que a degeneração ocorre após a antese ou após a polinização. Outros modos de desenvolvimento foram registrados como o aumento do número de antípodas, via mitose, em espécies de Poaceae, (Willemse & Went 1984; Rudall & Linder 1988), tendo o mesmo sido observado em *Dyckia pseudococcineae* (Mendes 2008). Em outras monocotiledôneas foram observadas antípodas binucleadas (Linder & Rudall 1993).

Todo esse processo de formação do ginófito, na qual são formadas, inicialmente oito núcleos derivados de um ginósporo calazal, sendo ao final do processo observadas duas sinérgides, uma oosfera, uma célula média e três antípodas, corresponde ao padrão tipo *Polygonum* de desenvolvimento do ginófito, já citado para *Tillandsia* (Billings 1904) e para outras espécies de Bromeliaceae (Lakshmanan 1967, Rao & Wee 1979) e também para espécies de Typhaceae (Asplund 1972) e de Rapateaceae (1988), assim como para a maioria das Angiospermas (Johri *et al.* 1992). Esse tipo de padrão é o ponto inicial para a discussão sobre o desenvolvimento do saco embrionário (Haig 1990). Nesse sentido, discussões acerca da origem e evolução do ginófito são realizadas. De acordo com Romanov (2002) o ginófito tipo *Polygonum* seria considerado ancestral para as Angiospermas, em função da origem a partir de um único ginósporo combinado com várias mitoses partindo de tal esporo, condição similar ao observado em Cicadales, Coniferales e Ginkgoales. Outra visão sobre tema foi

dado através de diferentes trabalhos que consideraram o ginófito composto de quatro células e quatro núcleos seria a condição basal para as Angiospermas (Friedman 2001; Friedman & Williams 2003; Friedman & Williams 2004; Williams & Friedman 2004). Em outros trabalhos com a mesma abordagem o ginófito tipo *Polygonum* seria a condição derivada em Angiospermas (Friedman 2006). Mais recentemente, baseado nas reconstruções da distribuição e evolução dos caracteres, o tipo *Polygonum* é certamente o mais representativo dos ancestrais dentre as monocotiledôneas (Friedman & Kirsten 2009).

No estágio de gametófito maduro, o tegumento interno e externo apresentam o mesmo comprimento (Fig. 5A, 5B). A micrópila é formada apenas pelo tegumento interno (Fig. 5A). O tegumento interno é formado por duas camadas de células no terço proximal, três camadas no terço médio e até cinco camadas no terço distal que define a micrópila. De maneira geral, o aumento do número de camadas ocorre através de mitoses na epiderme interna do tegumento. Na maturidade as células da epiderme interna, que formam o canal micropilar, apresentam crescimento radial, cujas células no contexto se arranjam em paliçada. A vacuolação de tais células usualmente posiciona o núcleo na porção média das células, as quais, quando analisadas em seção, apresentam uma organização tissular típica. O tegumento externo apresenta de três a quatro camadas celulares (Fig. 5A, 5B), onde as camadas de preenchimento são derivadas de divisões da epiderme externo do tegumento. No tegumento externo chama a atenção o crescimento radial acentuado das células da epiderme interna. Nessas células a vacuolação posiciona o núcleo na porção média da célula, a semelhança do que foi descrito para a epiderme interna do tegumento interno (Fig. 5B). Segundo Bouman (1984) os tegumentos sofrem um acréscimo em espessura durante o desenvolvimento do rudimento seminal, ocorrendo por divisões periclinais. Em Bromeliaceae, o número de camadas dos tegumentos são variáveis. Em *Vriesea carinata* o tegumento externo apresenta três camadas e o interno duas, podendo chegar a três em determinados pontos (Sartori 2008). Já em *Catopsis paniculata*, o tegumento externo apresentou até seis camadas de células (Palací *et al.* 2004) e nas espécies estudadas por Sajo *et al.* (2004a), os tegumentos podem variar de duas, como em *Tillandsia dura*, a diversas camadas celulares, como em *Gusmania madisonii*, também pertencente a Tillandsioideae. Em *Lindmania penduliflora*, ambos os tegumentos apresentaram duas camadas de células (Lakshmanan 1967).

Em espécies de Rapateaceae, observa-se que os tegumentos também apresentam variações no número de camadas, sendo que o externo pode apresentar de sete a nove camadas (Venturelli & Bouman 1988). Ambos os tegumentos encontrados em espécies de Typhaceae apresentam duas camadas celulares (Greaf, 1955; Asplund 1972). Diante disso,

observa-se que não há um padrão no número de camadas celulares de ambos os tegumentos na família aqui estudada e nem se pode fazer relação com as famílias relacionadas, pois o número de camadas é muito variável mesmo dentro de uma subfamília, como em Tillandsioideae.

A participação dos tegumentos na formação da micrópila é um dado importante observado nos estudos em Bromeliaceae. Em *Vriesea carinata* (Sartori 2008) e em algumas espécies estudados por Sajo *et al.* (2004a), o canal micropilar é formado por ambos os tegumentos ou apenas pelo tegumento interno Sajo *et al.* (2004a). Já nas espécies estudadas por Vervaeke *et al.* (2003), inclusive em uma espécie cultivada de *Tillandsia cyneae*, o canal micropilar é formado apenas pelo tegumento interno a semelhança do observado no presente estudo.

Poucos são os estudos que abordam este aspecto, podendo ser citados os trabalhos de Venturelli & Bouman (1988) com Rapateaceae e de Asplund (1972) com Typhaceae, em que ambas as espécies estudadas apresentam o canal micropilar formado pelo tegumento externo e interno. Segundo Linder & Rudall (2005), todos os membros de Poales, apresentam o tegumento externo e interno envolvendo completamente nucelo, sendo então, a característica apresentada por Poaceae uma sinapomorfia na ordem (Nakamura *et al.* 2009).

Na gametogênese é possível identificar células diferenciadas na porção basal do ginófito, contudo a análise da diferenciação de tais células permitiu definir o início de tal diferenciação durante a meiose (Fig. 4A, 4C). Assim, células do nucelo vizinhas à díade calazal de ginósporo, iniciam processo de diferenciação relacionado, principalmente, com a parede celular onde se observa impregnação de lignina, corando de verde com Azul de Toluidina. Tal diferenciação progride com a continuidade de impregnação das demais paredes de tais células vizinhas e poucas células imediatamente próximas. Foi observada coloração esverdeada da parede quando corado por Azul de Toluidina. De acordo com a literatura, a posição de ocorrência, fase de desenvolvimento e tipo de impregnação parietal permite definir que as células descritas definem a hipóstase (Bouman 1984; Johri *et al.* 1992). Caracterização similar de local de ocorrência, como a descrita no presente trabalho, foi apresentada para rudimentos seminais tenuinucelados por Batygina & Shamrov (2002). Para rudimento crassinucelado Batygina & Shamrov (*op. cit.*) descrevem que a diferenciação da hipóstase ocorre nas células que estão no mesmo nível de formação dos tegumentos, mas não imediatamente vizinhas ao limite do local de diferenciação do ginósporo ou limite do ginófito, ou seja, mais afastadas em relação ao que demonstrado no presente trabalho. A hipóstase é persistente em todo desenvolvimento do ginófito. Assim como em Liliaceae, em *T. aeranthos*,

a primeira indicação visível ocorre durante a fase de ginósporo funcional, sendo o máximo de sua diferenciação atingida durante a gametogênese. O modo de diferenciação da impregnação de lignina nas paredes parece irradiar a partir do limite entre as células nucelares e o ginósporo calazal, tal sentido de diferenciação foi descrito como centrífugo por Batygina & Shamrov (2002). No presente a diferenciação celular foi observada apenas nas paredes celulares, embora outros trabalhos mostrem que diferentes aspectos de transformação celular são registrados pelo grupo celular que irá ser definido como hipóstase, onde espessamentos parietais, impregnação parietal por calose ou acúmulo de metabólitos diversos, entre outros, podem ocorrer (Batygina & Shamrov *op. cit.*; Willemse & van Went 1984). Em Bromeliaceae pouco é abordado sobre este assunto, podendo citar que foi observada a sua presença em apenas *Vriesea carinata* (Sartori 2008) e *Ananas comosus* (Rao & Wee 1979). Sendo que em *Vriesea carinata*, foi visível apenas anteriormente a antese e em *Ananas comosus* ela foi visível posteriormente a antese. Bouman (1984) cita várias funções para a hipóstase, desde estruturais até funcionais. A hipóstase, segundo Rudall (1997), é comum em monocotiledôneas.

Outra característica de diferenciação nucelar, porém, com detecção de seus aspectos morfológicos já na gametogênese, diz respeito à lise das células que contornam, imediatamente, o ginófito em diferenciação. Além da lise celular foi observada compressão de tais células em função do crescimento do ginófito (Fig. 4E, 4I). Algumas dessas células foram observadas binucleadas (Fig. 4F). Cabe salientar, que, embora não seja a característica predominante, é observado com relativa frequência tais células binucleadas. Brighigna *et al.* (2006) descreve que ocorre degeneração das células do nucelo em *Tillandsia meridionalis* e *T. ixioides* durante o desenvolvimento do gametófito e que esta degeneração também é programada geneticamente.

O detalhamento da anatomia do rudimento seminal em *Tillandsia aeranthes* é compatível com o encontrado na literatura para a família para diversas características, como curvatura do rudimento seminal, número de tegumentos e a origem dos mesmos, além do arranjo dos ginósporos e determinação da ginósporo funcional bem como o tipo de desenvolvimento de ginófito. O trabalho também revelou aspectos peculiares a *T. aeranthes* como aspecto da iniciação do rudimento seminal, a descrição da assimetria do tegumento externo, o tipo de hipóstase, bem como a degeneração de celulares nucelar combinado com o crescimento do ginófito, além da presença de células nucelares binucleadas. Cabe salientar que a observação fusão nuclear nas células subdérmicas, como chance de originarem

meiócitos, merece, em função de suas consequências ao processo reprodutivo e ploidia embrionária, melhor investigação para confirmação do que foi descrito.

**Agradecimentos:** Ao César Carvalho de Freitas, pela inestimável ajuda na confecção do material para análise. À Merielen Saldanha, Patrícia Kurtz da Costa, Mariane P. Dorneles, do laboratório de Botânica Estrutural, pela ajuda na rotina laboratorial.

### **Referências Bibliográficas**

APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society** 161(2): 105-121.

ASPLUND, I. 1972. Embryological studies in the genus *Typha*. **Svensk Botanisk Tidskrift** 66(1): 1-17.

ASPLUND, I. 1973. Embryological studies in the genus *Sparganium*. **Svensk Botanisk Tidskrift** 67: 177-200.

BARBARÁ, T., MARTINEL, G., PALMA-SILVA, C., FAY, M. F., MAY, S. & LEXER, C. 2009. Genetic relationships and variation in reproductive strategies in four closely related bromeliads adapted to neotropical ‘inselbergs’: *Alcantarea glaziouana*, *A. regina*, *A. geniculata* and *A. imperialis* (Bromeliaceae). **Annals of Botany** 103(1): 65–77.

BARFUSS, M., SAMUEL, M. R. & TILL, W. 2004. Molecular phylogeny in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on six cpDNA markers: an update. **Journal of the Bromeliad Society** 54(1): 9-17.

BARFUSS, M. H. J., SAMUEL, R., TILL, W. & STUESSY, T. F. 2005. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. **American Journal of Botany** 92(2): 337-351.

BATYGINA, T.B. 2002. *In Embryology of flowering plants-Generative organs flower*. (T. B. Batygina, ed.) v. 1, Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi.

- BATYGINA, T. B & SHAMROV, I. I. 2002. Other special structures of the ovule. P. 126-137. In **Embryology of flowering plants**.-Generative organs of flower (T. B. Batygina, ed.), v.1, Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi.
- BENZING, D. H., SEEMANN, J., RENFROW, A. 1978. The foliar epidermis in Tillandsioideae (Bromeliaceae) and its role in habitat selection. **American Journal Botany** 65(3): 359-365.
- BENZING, D. H. 1980. **The Biology of the Bromeliads**, Eureka, California. Press, Cambridge.
- BENZING, D. H. 2000. **Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation**. Cambridge University Press, Cambridge.
- BILLINGS, F. H. 1904. A study of *Tillandsia usneoides*. **Botanical Gazette** 38(2): 99-121.
- BOUMAN, F. H. & CALIS, J. J. M. 1977. The integumentary shifting. A third way to unytegmy. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft** 90: 15-28.
- BOUMAN, F. 1984. The ovule. Pp.123-157. In **Embryology of Angiosperms** (B. M. Johri, ed.). Springer- Verlag, Berlin.
- BRIGHIGNA, L., PAPINI, A., MILOCANI, E. & VESPRINI, J. L. 2006. Programmed cell death in the nucellus of *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Caryologia** 59(4): 334-339.
- BROWN, G. K. & GILMARTIN, A. J. 1989. Stigma types in Bromeliaceae – a systematic survey. **Systematic Botany** 14(1): 110-132.
- BROWN, G. K. & TERRY, R. G. 1992. Petal appendages in Bromeliaceae. **American Journal of Botany** 79(9): 1051-1071.
- CASS, D. D. & FABI, G. C. 1990. Early ovule development in *Papaver rhoeus*. **Canadian Journal of Botany** 68:258-265.

CHASE, M. W., STEVENSON, D. W., WILKIN, P. & RUDALL, P. J. 1995. Monocot systematics: a combined analysis. Pp. 685-730. In: **Monocotyledons: systematic and evolution**. RUDALL, P.J., CRIBB, P.J., CUTLER, D.F., HUMPHRIES, C.J. (eds.). Royal Botanic Gardens, Kew.

CHASE, M. W., FAY, M. F., DEVEY, D. S., MAURIN, O., RONSTED, N., DAVIES, T. J., PILLON, Y., PETERSEN, G., SEBERG, O., TAMURA, M. N., ASMUSSEN, C. B., HILU, K., BORSCH, T., DAVIS, J. I., STEVENSON, D. W., PIRES, J. C., GIVINISH, T. J., SYTSMA, K. J., McPHERSON, M. A., GRAHAM, S. W. & RAI, H. S. 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. **Aliso** 22:63-75.

CONCEIÇÃO, S. P., DE TONI, K. L. G. & COSTA, C. G. 2007. Particularidades do nucelo de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Smith (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Biociências** 5(suppl 1): 846-848.

CRAYN, D. M., TERRY, R. G., SMITH, A. C. & WINTER, K. 2000. Molecular systematic investigations in Pitcairnioideae (Bromeliaceae) as a basis for understanding the evolution of crassulacean acid metabolism (CAM). Pp.569-579. In **Monocots: Systematics and Evolution** (K. L. Wilson, D. A. Morrison, eds.), CISRO, Melbourne.

DAVIS, G. L. 1966. **Systematic embryology of the angiosperms**. John Wiley & Sons, New York.

DILLON, M. O. 1991. A new species of *Tillandsia* (Bromeliaceae) from the Atacama desert of northern Chile. **Brittonia** 43(1): 11-16.

ENDRESS, P. K. & IGERSCHEIM, A. 2000. Gynoecium structure and evolution in basal angiosperms. **International Journal of Plant Science**. 161(6 Suppl.): 211-223.

EVERT, F. R. 2006. *Esau's Plant Anatomy- Meristms, Cells, and Tissues of the Plant Body: their structure, function, and development*. 3ed, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey.

FAGUNDES, N. F. & MARIATH, J. E. A. 2010. Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. **Acta Botânica Brasileira** 24(3): 765-779.

FRIEDMAN, W. E. 2001. Comparative embryology of basal angiosperms. **Current Opinion in Plant Biology** 4(1): 14-20.

FRIEDMAN, W. E. & WILLIAMS, J. H. 2003. Modularity of the angiosperm female gametophyte and its bearing on the early evolution of endosperm in flowering plants. **Evolution** 57(2): 216-230.

FRIEDMAN, W. E. & WILLIAMS, J. H. 2004. Developmental evolution on the sexual process in ancient flowering plant lineages. **The Plant Cell** 16(suppl 4):119-132.

FRIEDMAN, W. E. 2006. Embryological evidence for developmental lability during early angiosperm evolution. **Nature** 441: 337-340.

FRIEDMAN, W. E. & KIRSTEN, C. R. 2009. Reconstructing the ancestral female gametophyte of angiosperms: insights from *Amborella* and other ancient lineages of flowering plants. **American Journal of Botany** 96(1): 129–143.

GAUTHÉ, J. 1965. Contribution a l'étude caryologique des tillandsiées. **Mémoires Du Muséum National d'Histoire Naturelle** 16:39-59.

GERRITS, P. O. & SMID, L. 1983. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy** 132:81-85.

GILMARTIN, A. J. & BROWN, G. K. 1986. Cladistics tests of hypotheses concerning evolution of xerophytes and mesophytes within *Tillandsia* subg. *Phytarrhiza* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany** 73(3): 387-397.

GILMARTIN, A. J. & BROWN, G. K. 1987. Bromeliales, related monocots, and resolution of relationships among Bromeliaceae subfamilies. **Systematic Botany** 12(4): 493-500.

GITAÍ, J., HORRES, R. & BENKO-ISEPPON, A. M. 2005. Chromosomal features and evolution of Bromeliaceae. **Plant Systematics Evolution** 253(4): 65-80.

GIVNISH, T. J., MILLAM, K. C., BERRY, P. E. & SYTSMA, K. J. 2007. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. **Aliso** 23:3-26.

GIVNISH, T. J., AMES, M., MCNEAL, J. R., MCKAIN, M. R., STEELE, P. R., DEPAMPHILIS, C. W., GRAHAM, S. W., PIRES, J. C., STEVENSON, D. W., ZOMLEFE, W. B., BRIGGS, B. G., DUVALL, M. R., MOORE, M. J., HEANEY, M., SOLTIS, D. E., SOLTIS, P. S., THIELE, K., & LEEBENS-MACK, J.H. 2010. Assembling the Tree of the monocotyledons: Plastome Sequence Phylogeny and Evolution of Poales. **Annals Missouri Botanic Garden** 97(4): 584-616.

GIVNISH, T. J., BARFUSS, M. H. J., VAN EE, B., RIINA, R., SCHULTE, K., HORRES, R., GONSISKA, P. A., JABAILY, R. S., CRAYN, D. M., SMITH, A. C., WINTER, K., BROWN, G. K., EVANS, T. M., HOLST, B. K., LUTHER, H., TILL, W., ZIZKA, G., BERRY, P. E. & SYTSMA, K. J. 2011. Phylogeny, adaptative, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an Eighth-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany** 98(5): 1-24.

GRAEF, P. E. 1955. Ovule and embryo sac development in *Typha latifolia* and *Typha angustifolia*. **American Journal of Botany** 42(9): 806-809.

HAIG, D. 1990. New perspectives on the Angiosperm Female Gametophyte. **The Botanical Review** 56(3): 236-274.

HALBRITTER, H. 1992. Morphologie und systematische bedeutung des pollens der Bromeliaceae. **Grana** 31(3): 197-212.

HORRES, R., ZIZKA, G., KAHL, G. & WEISING, K. 2000. Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from trnL(UAA) intron sequences of the chloroplast genome. **Plant Biology** 2(3): 306-315.

IGERSHEIM, A., BUZGO, M. & ENDRESS, P. K. 2001. Gynoecium diversity and systematics in basal monocots. **Botanical Journal of the Linnean Society** 136(1): 1-65.

JACQUES-FÉLIX, H. 2000. The discovery of a bromeliad in Africa: *Pitcarnia feliciana*. **Selbyana** 21(1-2): 118-124.

JOHANSEN, D. A. 1940. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill, New York.

JOHRI, B. M., AMBEGAOKAR, K. B. & SRIVASTAVA, P. S. 1992. **Comparative embryology of Angiosperms**. Springer-Verlag, Berlin.

KAPIL, R. N. & BHATNAGAR, A. K. 1981. Ultrastrutura and Biology of Female Gametophyte in Flowering Plants. **International Review of Cytology** 70:291-341.

KORDYUM, E. L. 1968. Peculiarities of early ontogenesis of the ovule of the ovule with different archesporium type in the number of representatives ao angiosperms. *Cytology I Genetic* 2(5): 415-428.

LAKSHMANAN, K. K. 1967. Embryological studies in the Bromeliaceae. **Proceedings Indian Academy Science LXV**: 49-54.

LINDER, H. P. & RUDALL, P. J. 1993. The megagametophyte in *Anarthria* (Anarthriaceae, Poales) and its implications for the phylogeny of the Poales. **American Journal of Botany** 80(12): 1455-1464.

LINDER, H. P. & RUDALL, P. 2005. Evolutionary History of Poales. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** 36: 107-124.

LINDSCHAU, M. 1933. Beiträge zur zytologie der Bromeliaceae. **Planta** XX:506-530.

LOWE, J. 1961. The Phylogeny of monocotyledons. **New Phytology** 60(3): 355 -387.

MCDOWELL, E. M. & TRUMP, B. R. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Arch. Pathol Lab. Med.* 100: 405-414.

MENDES, S. P. 2008. **Endospermogênese e embriogênese de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Smith (Bromeliaceae)**. Dissertação. Museu Nacional/Universidade do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

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(1): 165-176.

O'BRIEN, T. P. & MCCULLY, M. E. 1981. **The study of plant structure: principles and selected methods**. Melbourne. Termacarphi Pty Ltd.

OLIVEIRA, J. M. S. 2001. **Androsporogênese a Androgametogênese em *Spondias mombin* L. (cajazeira – Anacardiaceae)**. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

OLIVEIRA, J. M. S. & MARIATH, J. E. A. 2001 Anther and pollen development in *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) clone CP76. **Phytomorphology** 51:91-100.

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

PAPINI, A., MOSTI, S., MILOCANI, E., TANI, G., DI FALCO, P. & BRIGHIGNA, L. 2010. Megasporogenesis and programmed cell death in *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Protoplasma** 248(4): 651-662.

RAGHAVAN, V. 1997. **Molecular embryology of flowering plants**. Cambridge University Press, Cambridge.

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

RODKIEWICZ, B. 1970. Callose in cell walls during megasporogenesis in angiosperms. **Planta** 93(1): 39-47.

ROMANOV, I. D. Principles of Embryo Sac Classification. p. 169. In **Embryology of flowering plants**(T. B. Batygina, ed.),v1,Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi.

RUDALL, P.J. & LINDER, H.P. 1988. Megagametophyte and nucellus in Restionaceae and Flagellariaceae. **American Journal of Botany** 75(12): 1777-1786.

RUDALL, P. J. 1997. The nucellus and chalaza in Monocotyledons: structure and systematics. **Botanical Review** 63(2): 140-181.

RUDALL, P. J., STUPPY, W., CUNNIFF, J., KELLOGG, E. A. & BRIGGS, B. G. 2005. Evolution of reproductive structures in grasses (Poaceae) inferred by sister -group comparison with their putative closest living relatives, Ecdeiocoleaceae. **American Journal of Botany** 92(9): 1432-1443.

RUSSELL, S. D. 2001. Female Gametogenesis: Ontogenesis of the Embryo Sac and Female Gametes. Pp. 67-89. In **Current Trends in the Embryology of Angiosperms**. Bhojwani e Soh eds. Kluwer Academic Publishers. Boston, London.

SCATENA, V. L. & BOUMAN, F. 2001. Embryology and seed development of *Paepalanthus* sect. *Actinocephalus* (Koer) Ruhland (Eriocaulaceae). **Plant Biology** 3:341-350.

SAJO, M. G., PRYCHID, C. J. & RUDALL, P. J. 2004a. Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. **Kew Bulletin** 59(2): 261-267.

SAJO, M. G., RUDALL, P. J. & PRYCHID, C. J. 2004b. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectarines in commelinid monocots. **Plant Systematics and Evolution** 247:215-231.

SARTORI, J. S. S 2008. **Desenvolvimento floral em *Vriesea carinata* Wawra (Tillandsioideae – Bromeliaceae)**. Tese. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

SASS, J. E. 1951. **Botanical Microtechnique**. State University Press, Iowa.

SMITH, L. B. & DOWNS, R. J. 1974. **Pitcairnioideae (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica Hafner Press, New York.

SMITH, L. B. & DOWNS, R. J. 1977. **Tillandsioideae (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica. Hafner Press, New York.

SMITH, L. B. & DOWNS, R. J. 1979. **Bromelioideae (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica. Hafner Press, New York.

SPORNE, K. R. 1969. The ovule as an indicator of evolutionary status in angiosperms. **New Phytologist** 68(2): 555-566.

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

TERRY, R. G.; BROWN, G. K., OLMSTEAD, R. G. 1997a. Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. **American Journal of Botany** 84(5): 664-670.

TERRY, R. G., BROWN, G. K. & OLMSTEAD, R. G. 1997b. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) using *ndhF* sequences. **Systematic Botany**, 22(2): 333-345.

TOMLINSON, P. B. 1969. **Anatomy of the monocotyledons -III. Commelinales-Zingiberales**. Oxford University Press, New York.

VARADARAJAN, G.S. & BROWN, G.K. 1988. Morphological variations of some floral features of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) and their significance in pollination biology. **Botanical Gazette** 149(1): 82-91.

VENTURELLI, M. & BOUMAN, F. 1986. Embryology and seed development in *Mayaca fluviatilis* (Mayacaceae). **Acta Botanica Neerlandica** 35:497-516.

VENTURELLI, M. & BOUMAN, F. 1988. Development of ovule and seed in Rapateaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 97(3): 267-294.

VERVAEKE, I., PARTON, E., DEROOSE, R. & DE PROFT, M. P. 2003. Flower biology of six cultivars of the Bromeliaceae I. pollen, pistil, and petal appendages. **Selbyana** 24:78- 86.

WEE, Y. C. & RAO, A. N. 1974. Gametophytes and seed development in pineapple. **Current Science** 43(6): 171-173.

WIEGAND, K. M. 1900. The development of the embryo-sac in some monocotyledons plants. *Botanical Gazette* 30(1): 25-47.

WILLEMSE, M. T. M. & WENT, J. L. VAN. 1984. The female gametophyte. Pp.123-157. In **Embryology of Angiosperms** (B. M. Johri, ed.). Springer-Verlag, Berlin.

WILLIAMS, J. H. & FRIEDMAN, W. E. 2004. The four-celled female gametophyte of *Illicium* (Illiciaceae; Austrobaileyales): implications for understanding the origin and early evolution of monocots, eumagnoliids, and eudicots. **American Journal of Botany** 91(3): 332-351.

YADEGARI, R. & DREWS, G. N. 2004. Female gametophyte development. **The Plant Cell** 16:S133-S141.

YAN, L., YAN, Z., CHEN, N., DI, X., HUANG, J., GUO, G. 2010. Development and function of central cell in Angiosperm Female Gametophyte. **Genesis** 48(8): 466-478.

Figura 1. Desenvolvimento inicial do rudimento seminal de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 1A. Aspecto geral do ovário tricarpelar com vários rudimentos por lóculo. 1B. Região placentária com camada dérmica (I), subdérmica (II) e central (III). 1C. Crescimento radial das células subdérmicas (seta preta) e divisão na camada subdérmica (seta branca) 1D. Crescimento radial das células na camada dérmica (I) e subdérmica (II). Divisões na camada subdérmica (setas). 1E. Camada dérmica, subdérmica e central, não se observam as células da camada central com alongamento radial (seta). 1F. Divisões periclinais na camada subdérmica, com célula binucleada (seta). 1G. Detalhe da camada subdérmica com células que apresentam núcleo volumoso. 1H. Aspecto geral do carpelo com rudimentos seminais com uma estrutura composta de três camadas. 1I e 1J. Rudimento seminal com divisões periclinais, obliquas e anticlinais (setas) nas derivadas da camada subdérmica. Barra de escala: 50  $\mu\text{m}$  (1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1H, 1I, 1J), 20  $\mu\text{m}$  (1F, 1G).

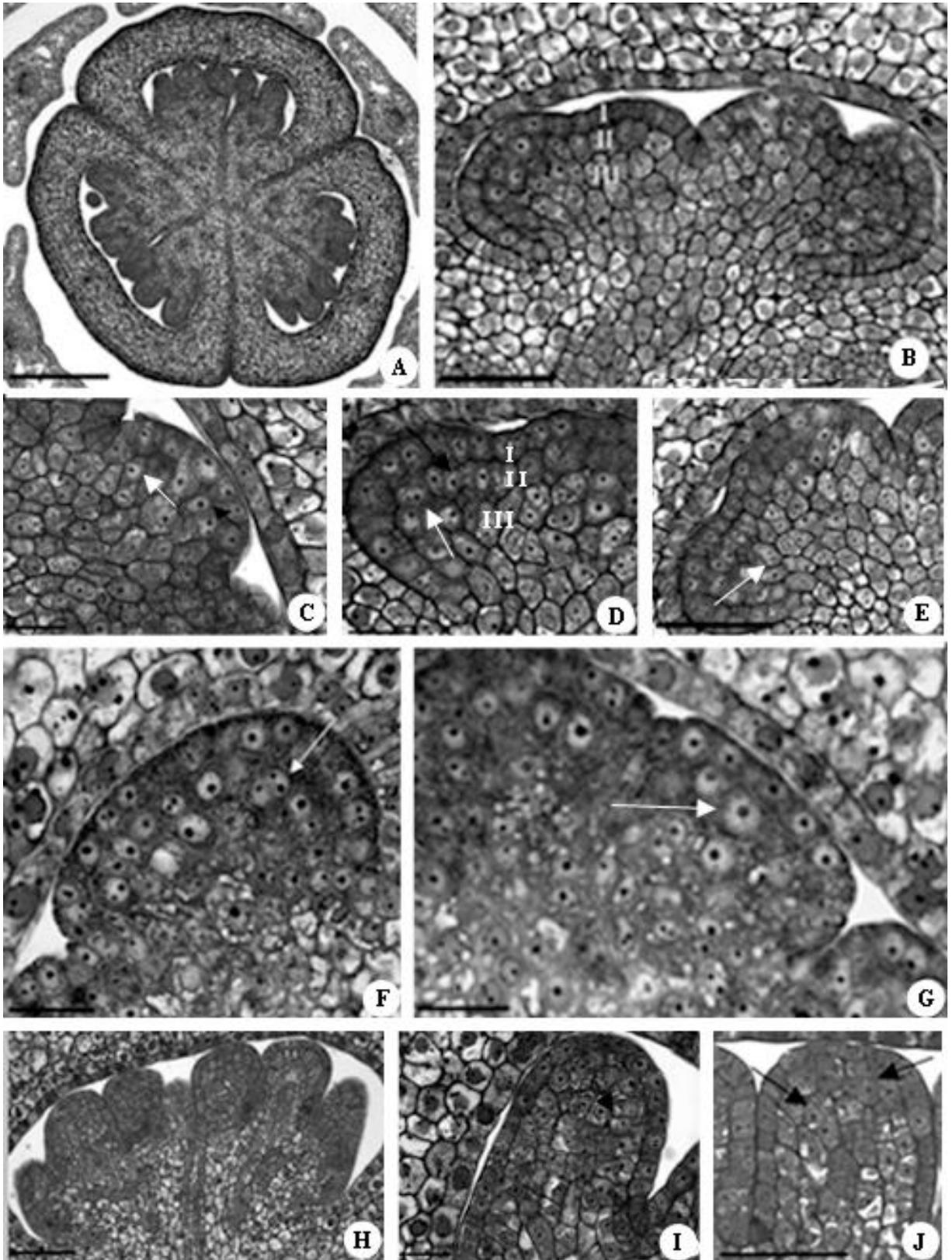


Figura 2. Formação dos tegumentos e da Célula-mãe de ginósporo de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 2A. Rudimento seminal com inicial arquesporial (seta). 2B. Rudimento seminal com duas células arquesporiais. 2C. Divisão da inicial arquesporial, formando uma derivada externa (de) e uma derivada interna (di). 2D. Início da formação do tegumento interno (seta). 2E. Divisões para formação do tegumento interno (ti) e externo (te), de origem dérmica (seta). Célula-mãe de ginósporo (seta branca). 2F. Tegumento interno (ti) da porção ventral e dorsal, tegumento externo (te) surge primeiramente na porção dorsal. (te). Barra de escala: 50 $\mu$ m (2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F)

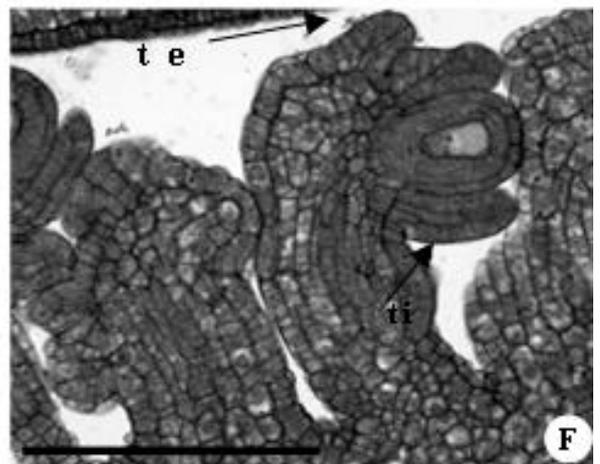
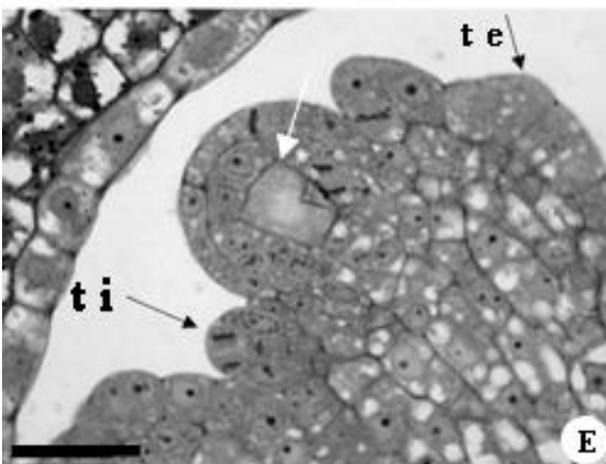
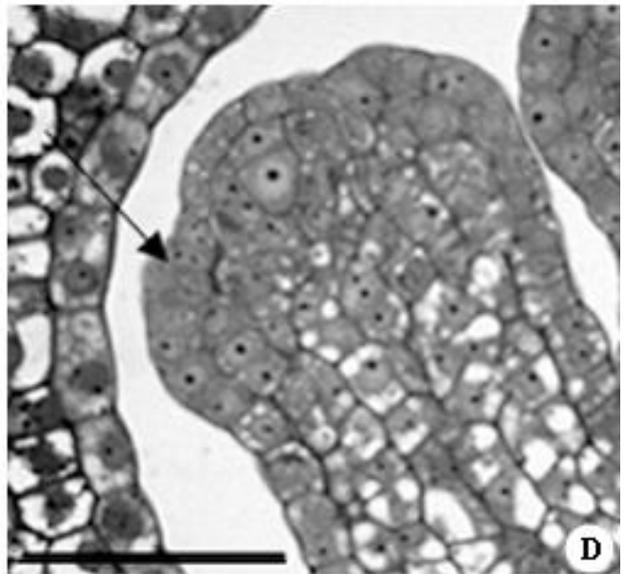
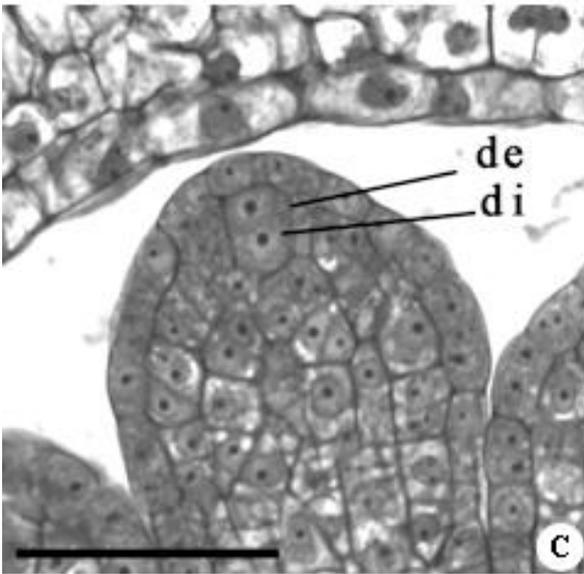
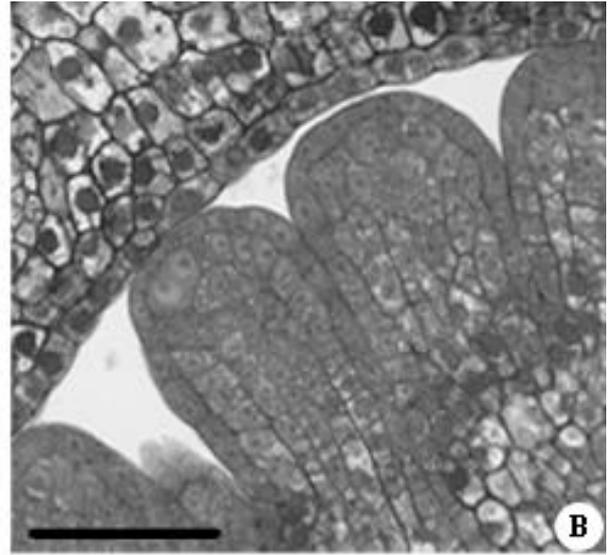
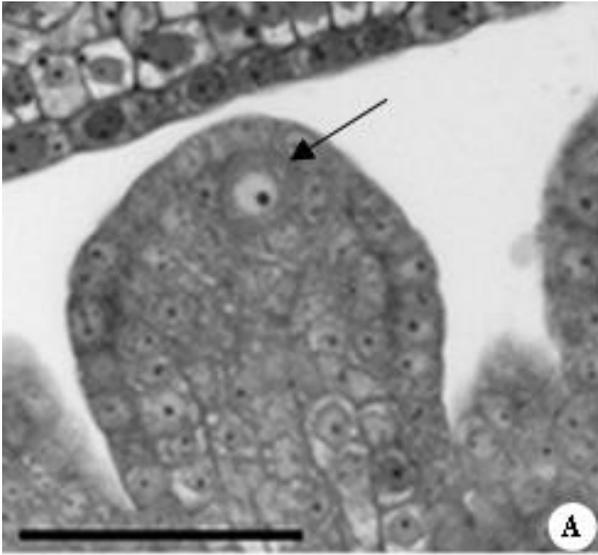


Figura 3. Ginosporogênese de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 3A. Célula-mãe de ginósporo (CMG) em processo de polarização, anterior a primeira etapa da meiose. 3B. Início do primeiro ciclo meiótico – metáfase. 3C. Telófase. Divisões nas células do nucelo (seta). 3D. Estágio de díade de ginósporo com presença de calose entre os esporos. 3E. Tétrade de ginósporo, divisão no esporo calazal, formando dois esporos (m) e o esporo micropilar em metáfase (seta). 3F. Ginósporo funcional calazal e os demais degenerados. 3G. Tétrade de ginósporo com presença de parede de calose em maior quantidade nas paredes transversais (setas), teste com Azul de Anilina. Barra de escala: 100µm (1A, 1C), 50µm (1D, 1G), 20µm (1B, 1E, 1F)

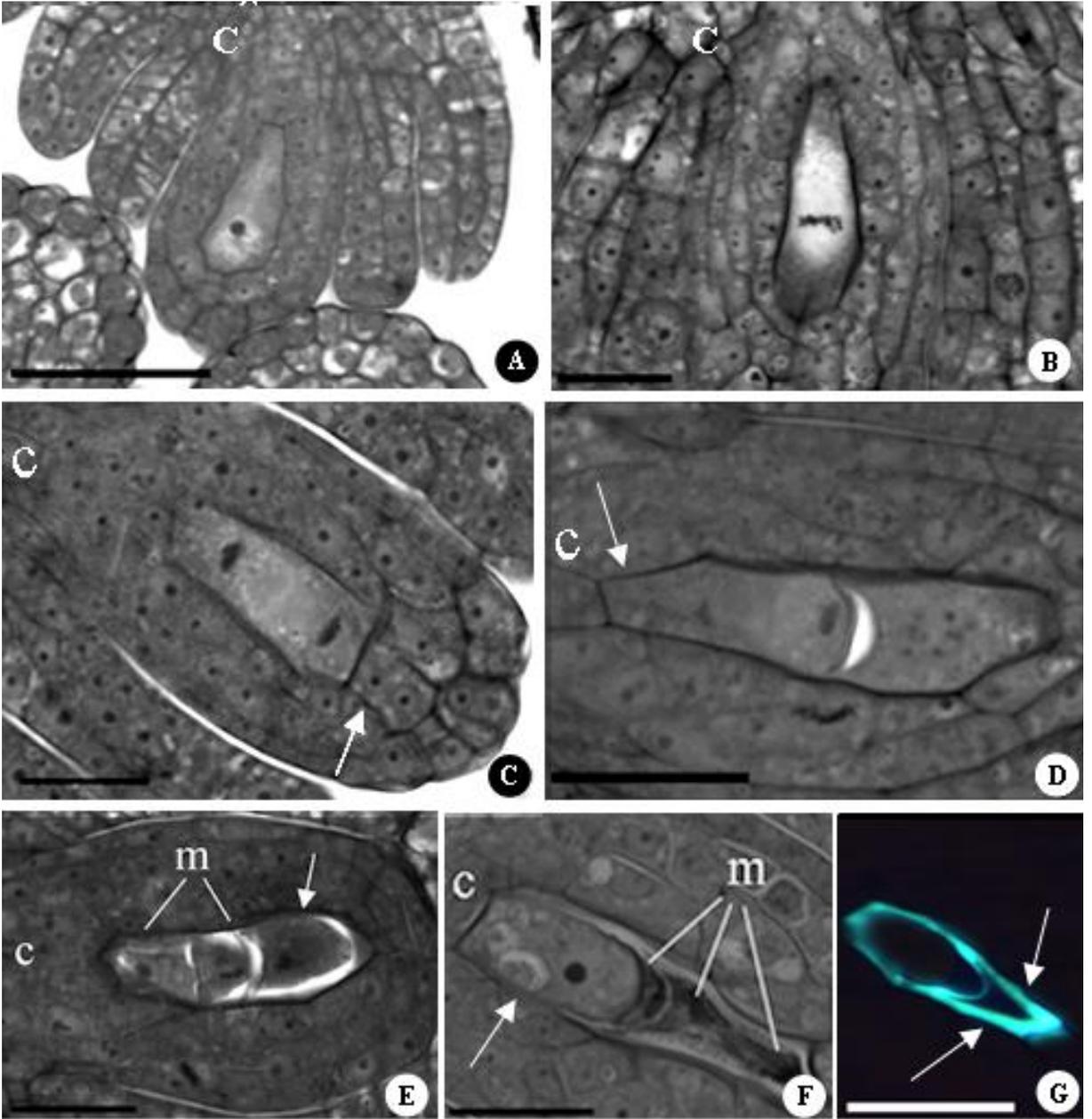


Figura 4. Ginogametogênese e Ginófito maduro de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 4A. Ginófito uninucleado, seta indicando a região da hipóstase. 4B. Ginófito binucleado. 4C. Ginófito tetranucleado, observa-se a região da hipóstase (seta). 4D. Antípodas e um núcleo polar. 4E. Núcleos polares na porção média do ginófito, seta indicando células nucleares em degeneração. 4F. Célula nuclear binucleada (seta). 4G. Fusão dos núcleos polares. 4H. Núcleos polares próximos ao aparelho oosférico. 4I. Oosfera com o vacúolo micropilar. Células nucleares em degeneração (seta) 4J. Aparelho oosférico com detalhe para o aparelho fibrilar (seta). c – polo calazal, m – polo micropilar, v -vacúolo, n- núcleo, c- calaza, np - núcleo polar, sn- sinérgides, at- antípodas, oo –oosfera. Barra de escala: 100µm (1A, 1C), 50µm (1D, 1I), 20µm (1B, 1E, 1F, 1G, 1J)

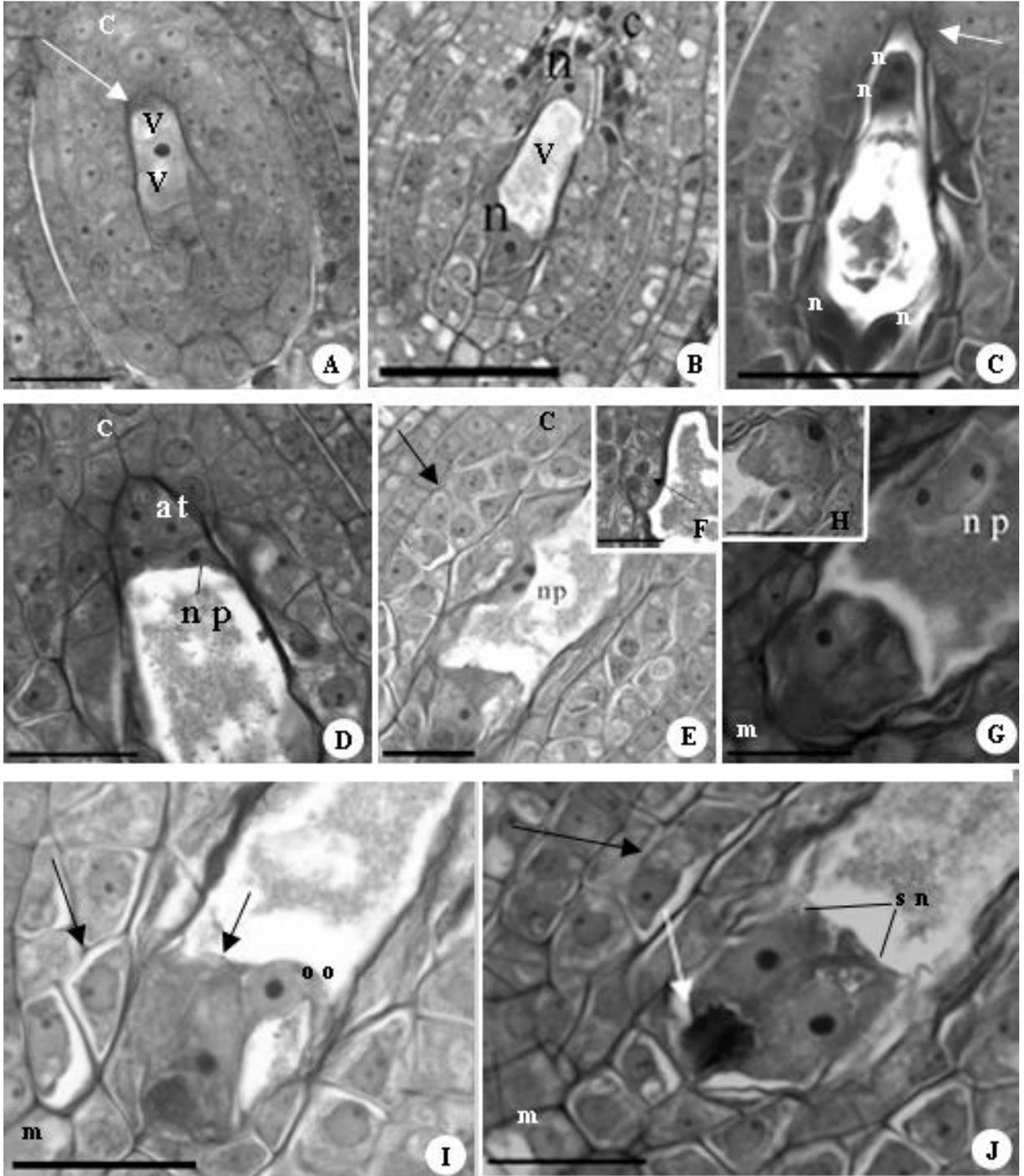
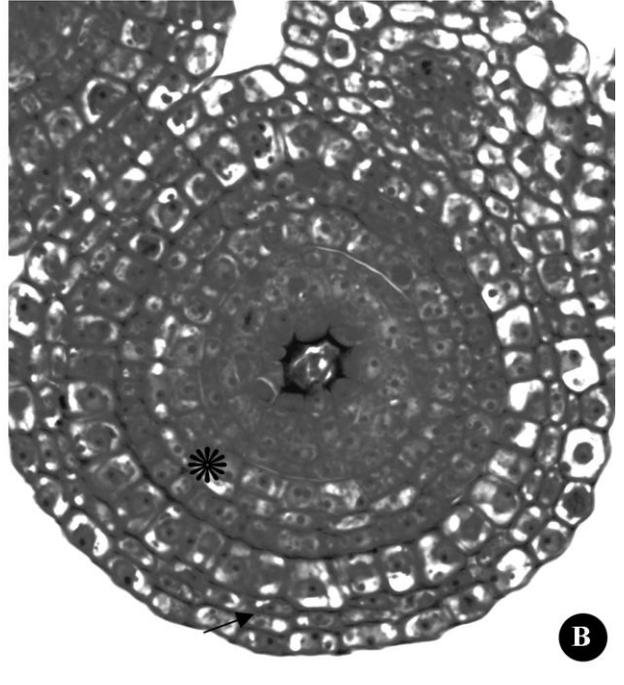
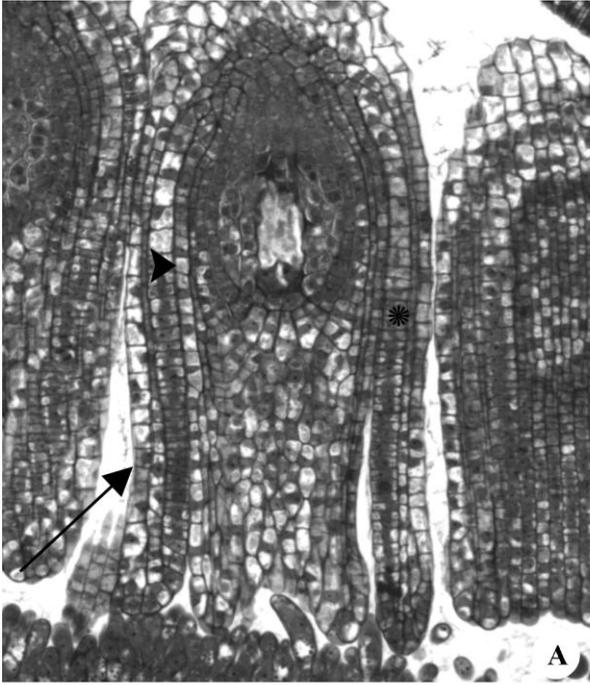


Figura 5. Tegumentos de *Tillandsia aeranthos* (Lois.) L. B. SM. 5A. Ginófito com tegumento externo apresentando três camadas (seta), tegumento interno (cabeça da seta) apresenta duas a três camadas nessa região. Células do tegumento externo apresentam formato radial (asterisco). 5B. Tegumentos em secção transversal. Tegumento externo com três camadas apresentando divisões celulares (seta). Tegumento interno (asterisco) apresenta três camadas. Barra de escala: 100µm (5A), 50µm (5B)



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários aspectos abordados neste estudo merecem destaque, dentre eles podemos citar de forma pontual:

- A formação dos estratos no esporângio da antera é caracterizado como tipo misto em *T. aeranthos*, pois ocorre o padrão monocotiledôneo e básico, descrito pela primeira vez na família. Sendo que a maioria das monocotiledôneas já estudadas, o tipo de padrão de desenvolvimento é do tipo monocotiledôneo (Davis, 1966; Johri et al., 1992; Palser, 1975; Dalgren et al., 1985), sendo considerado esse, também um padrão comum em Bromeliaceae (Davis, 1966; Sajo et al., 2005).

- Os rudimentos seminais surgem a partir de uma massa celular com características meristemáticas e por crescimento radial e divisões periclinais na camada subdérmica, dado inédito para a família, pois as espécies de Bromeliaceae já estudadas foram descritos como trizonados (Conceição et al., 2007; Sartori, 2008).

- Os esporos formados no processo de esporogênese na antera e no rudimento seminal apresentam-se constituídos de calose ao redor, tendo seu início de deposição nos andrósporos ainda na fase de célula-mãe de andrósporos e os ginósporos formados apresentam calose após a primeira divisão meiótica. A calose é depositados de forma irregular em ambos os esporos. Essa presença de calose ao redor dos esporos proporciona uma autonomia no desenvolvimento das células haplóides, ou seja, estabelece uma barreira seletiva entre as células (Bhandari, 1984) e está relacionado com a degeneração dos ginósporos micropilares no rudimento (Papini et al., 2010).

- A geração gametofítica é formada pelo andrófito e pelo ginófito. No rudimento seminal, o ginófito é do Tipo *Polygonum* com desenvolvimento monospórico, sendo este o mais encontrado nas Angiospermas (Johri et al., 1992; Romanov, 2002) e também em Bromeliaceae (Billings, 1904, Lakshmanan, 1967; Rao e Wee 1979; Sartori, 2008; Mendes, 2008). O andrófito é bicelular, como na maioria das Angiospermas (Bhandari 1984) e

observado nas espécies de bromeliaceae já estudadas (Sajo et al., 2005, Conceição, 2005, Sartori, 2008).

## CONCLUSÃO

Os resultados estruturais e anatômicos obtidos para a antera, andrófito, rudimento seminal e ginófito, com ênfase aos processos de desenvolvimento demonstraram que *Tillandsia aeranthos* apresenta características comuns com as espécies de Bromeliaceae já estudadas e também apresenta dados poucos explorados dentro da família e alguns dados inéditos.

A partir das características aqui apresentadas, estudos sobre aspectos fisiológicos e genéticos, envolvendo o processo de esporogenese e gametogênese, tanto da antera quanto do rudimento apresentam perspectivas de estudo.

Neste estudo, foi descrito pela primeira vez uma formação mista dos estratos parietais da antera para Bromeliaceae. Aspecto que deve ser discutido e que apresenta perspectivas de estudos nas demais espécies da subfamília e família.

De forma ampla, podemos citar vários aspectos do desenvolvimento discutidos neste trabalho, como a formação dos esporângios e aspectos da sua organização, com destaque para o tecido tapetal da antera e epiderme nucelar do rudimento, padrão de formação das tétrades e a deposição de calose, formação do andrófito e desenvolvimento do ginófito.

Importante salientar que os resultados aqui descritos abrangem vários aspectos de desenvolvimento para uma mesma espécie e que juntamente com os dados obtidos em outros trabalhos de Bromeliaceae e com dados futuros sobre a embriologia na família e na subfamília, inferências taxonômicas e filogenéticas podem ser amplamente discutidas. Com relação a essas questões, são necessários maiores esforços de investigação e utilização de outras técnicas, como a microscopia eletrônica de transmissão para melhor investigação sobre as células do tapete, muito discutido em Bromeliaceae, e também sobre os estratos que formam a esporoderme, aspecto de importância taxonômica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APG III. 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, aug. 2009.

AOYAMA, E. M., SAJO, M. G. Estrutura foliar de *Aechmea Ruiz & Pav.* Subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker e espécies relacionadas (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26 n. 4, p. 461-473, out-dez. 2003.

ARRUDA, R. C. O. COSTA, A. F. Foliar anatomy of five *Vriesea* sect. *Xiphion* (Bromeliaceae) species. **Selbyana**, v. 24, n. 2, p. 180-189. 2003.

BARFUSS, M. H. J. et al. 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, feb. 2005.

BENZING, D. H. The life history profile of *Tillandsia circinnata* (Bromeliaceae) and the Rarity of extreme epiphytism among the Angiosperms. **Selbyana**, v. 2, n. 4, p. 325-337. 1974.

BENZING, D. H et al. The foliar epidermis in Tillandsioideae (Bromeliaceae) and its role in habitat selection. **American Journal Botany**, v. 65, n. 3, p. 359-365, mar. 1978.

BENZING, D. H. **The Biology of the Bromeliads**. Eureka (ad). California. 1980. 303p.

BENZING, D. H. **Bromeliaceae**: profile of an adaptative radiation. Cambridge University. 2000. p. 3-15.

BENZING, D. H., LUTHER H. E., BENNETT, B. Reproduction and life history. *In*: BENZING, D.H (ed.). **Bromeliaceae**: Profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press, Cambridge. 2000. p. 245-328.

BHANDARI, N. The microsporangium. *In* **Embryology of angiosperms** (B. M. Johri, ed.). Springer-Verlag, Berlin. 1984. p. 53-121.

BILLINGS, F. H. A study of *Tillandsia usneoides*. **Botanical Gazette**, v. 38, n. 2, p. 99-121, aug. 1904.

BIRGE, W. L. The anatomy and some biological aspects of the ball moss. *Tillandsia recurvata* L. **Bulletin University of Texas**, v. 194, n. 1, p. 5-24. 1911.

BRIGHIGNA, L., FIORDI, A. C., PALANDRI, M. R. Ultrastructural investigations on the two-nucleate pollen grain of *Tillandsia caput-medusae*. Morr. (Bromeliaceae). **American Journal of Botany**, v. 68, n. 8, p. 1033-1041, sep. 1981.

BRIGHIGNA, L., PAPINI, A. The ultrastructure of the tapetum of *Tillandsia albina* MEZ ET PURPUS. **Phytomorphology**, v. 43, p. 261-274, oct. 1993.

BRIGHIGNA, L. et al. Programmed cell death in the nucellus of *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Caryologia**, v. 59, n. 4, p. 334-339. 2006.

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

BROWN, G. K., GILMARTIN, A. J. Stigma types in Bromeliaceae – a systematic survey. **Systematic Botany**, v. 14, n.1, p. 110-132, jan-feb. 1989.

BROWN, G. K., TERRY, R. G. Petal appendages in Bromeliaceae. **American Journal of Botany**, v.79, n. 9, p. 1051-1071, sep. 1992.

CONCEIÇÃO, S. P. Ontogenia **das anteras de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Smith (Bromeliaceae)**. 2005. 37p. Monografia de conclusão de curso (Curso de Ciências Biológicas) Universidade Santa Úrsula. Rio de Janeiro, 2005.

CONCEIÇÃO, S. P., DE TONI, K. L. G., COSTA, C. G. Particularidades do nucelo de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Smith (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Biociências** 5(supl 1): 846-848, jul. 2007.

CRAYN, D. M. et al. Molecular systematic investigations in Pitcairnioideae (Bromeliaceae) as a basis for understanding the evolution of crassulacean acid metabolism (CAM). In Wilson K L, Morrison, D. A (eds). **Monocots: Systematics and Evolution**, Melbourne, 2000. p. 569-579.

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

DAVIS, G. L. **Systematic embryology of the angiosperms**. John Wiley & Sons, New York. 1966. 528 p.

DETTKE, G. A. MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Anatomia vegetativa de *Bromelia antiacantha* Bertol. (Bromeliaceae, Bromelioideae). **Balduinia**, v.13, p.1-14. 2008.

ERDTMAN, G., PRAGLOWSKI, K. A note on pollen morphology. **Flora Neotropica**, v.14, n.1, p. 28-33. 1974.

EVA, M., PAPINI, A. BRIGHIGNA, L. Ultrastructural studies on bicellular pollen grains of *Tillandsia sekeriana* Mez (Bromeliaceae), a neotropical epiphyte. **Caryologia**, v. 59, n. 1, p.88-97, jan. 2006.

FAGUNDES, N. F., MARIATH, J. E. A. Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. **Acta Botanica Brasílica**, v. 24, n. 3, p.765-779, jun. 2010.

FORZZA, R. C. **Filogenia da tribo Puyee Wittm. e revisão taxonômica do gênero Encholirium Mart. ex Schult. & Schult. f. (Pitcairnioideae – Bromeliaceae)**. 2001. 208 f. Tese (Ciências Área de Botânica). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2001.

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, oct-nov. 1987.

GIVNISH, T.J .et al. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. **Aliso**, v. 23, p. 3-26. 2007.

GIVNISH, T. J. et al. Assembling the tree of the Monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. **Annals of the Miss. Bot. Gar.**, v. 97, n. 4, p. 584-616, dec. 2010.

GIVNISH, T. J. et al. Phylogeny, adaptative, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an Eighth-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, v. 98, n.5, p.1-24, feb. 2011.

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

HAUSSEN, M. A. **Biogeografia da família Bromeliaceae Juss. no Rio Grande do Sul**. 1992. Dissertação. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, 1992.

HESS, M. W. Ultrastructure of organelles during microsporogenesis in *Tillandsia pallidoflavens* (Bromeliaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 176, n. 1-2, p. 63-74, jan. 1991.

HORRES, R. et al. Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from trnL (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. **Plant Biology**, v. 2, n. 3, p. 306-315, may. 2000.

JACQUES-FÉLIX, H. The discovery of a bromeliad in Africa: *Pitcairnia Feliciana*. **Selbyana**, v. 21, n. 1-2, p. 118-124. 2000.

JOHRI, B. M. et al. Comparative **Embryology of Angiosperms**, v.1. Berlin, Springer-Verlag, NY. 1992.

KULKARNI, R. A., PAI, R. M. The floral anatomy of *Puya spathacea* Mez. (Bromeliaceae) with special reference to nectarines. **Proceedings of Indian Academy of Sciences**, v.91, n.6, p. 472-478. 1982.

LAKSHMANAN, K. K. Embryological studies in the Bromeliaceae. **Proceedings of Indian Academy of Sciences**, v. 65, n. 2, p. 49-54. 1967.

LINDER, H. P., RUDALL, P. Evolutionary History of Poales. **Annual. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 36, p.107-124, july. 2005.

MENDES, S. P. **Endospermogênese e embriogênese de *Dyckia pseudococcinea* L. B. Smith (Bromeliaceae)**. 2008. Dissertação. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2008.

MANTOVANI, A., IGLESIAS, R. R. Quando aparece a primeira escama? Estudo comparativo sobre o surgimento de escamas de absorção em três espécies de bromélias terrestres de restinga. **Rodriguésia**, v. 56, n. 87, p. 73-84. 2005.

MONDRAGON, D., CALVO-IRABIEN L, M. Seed dispersal and germination of the epiphyte *Tillandsia Brachycaulos* (Bromeliaceae) in a tropical dry Forest, Mexico. **The Southeastern Naturalist**, v. 51, n. 4, p. 462-470, mar. 2006.

MOREIRA, B. A.; CRUZ-BARROS, M. A. V.; WANDERLEY, M. G. L. Morfologia polínica de algumas espécies dos gêneros *Neoregelia* L.B. Sm. e *Nidularium* Lem. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n.1, p. 61-70, jul. 2005.

NAKAMURA, A.T., LONGHI-WAGNER, H. M., SCATENA, V. L. Anther and polle development in some species of Poaceae (Poales). **Brazilian Journal Biology**, v.70, n. 2, p. 351-360. 2010.

PAGGI, M. G. et al. 2007. Fertility of *Vriesea gigantea* Gaud. (Bromeliaceae) in southern Brazil. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 4, p. 683-689, may. 2007.

PALSER, B. F. The bases of Angiosperm Phylogeny: Embriology. **Anns of the Missouri Botanical Garden**, v. 62, n. 3, p. 621-646. 1975.

PAPINI, A. et al. Megasporogenesis and programmed cell death in *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Protoplasma**, v. 248, n. 4, p. 651-662, oct. 2010.

PITA, P. B., MENEZES, N. L. Anatomia da raiz de espécies de *Dyckia Schult. F.* e *Encholirium Mart. Ex Schult & Schult. F.* (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil), com especial referência ao velame. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 1, p. 25-34, mar. 2002.

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, set. 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, dec. 2007.

PROENÇA, S. L. & SAJO, M. G. Rhizome and root anatomy of 14 species of Bromeliaceae. **Rodriguésia**, v. 59, n. 1, p. 113-128. 2008.

QUEZADA, I. V., GIANOLI, E. Crassulacean acid metabolism photosynthesis in Bromeliaceae: an evolutionary key innovation. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 104, n. 2, p.480-486, may. 2011.

RAMÍREZ, I. M. Pollinators in *Cryptanthus*: a hypothesis. **Journal of the bromeliad society**, v. 51, p. 65-70, sep. 2001.

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

REITZ, R. **Bromeliáceas e a Malária - Bromélia endêmica**. In Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, pars. 1, fascículo Bromeliaceae, 1983. 559p.

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

SAJO, M. G., RUDALL, P. J. & PRYCHID, C. J. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectarines in commelinid monocots. **Plant Systematics and Evolution**, v. 247, p. 215-231, jun. 2004b.

SAJO, M. G. et al. Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. **Grana**, v. 44, n. 2, p. 65-74, jun. 2005.

SARTORI, J. S. S. **Desenvolvimento Floral em *Vriesea carinata* Wawra (Tillandsioideae – Bromeliaceae)**. 2008. Tese. 111p. (Universidade Federal do Rio Grande do Sul). Porto Alegre, 2008.

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

SEGECIN, S., SCATENA, V. L. Morfoanatomia de rizomas e raízes de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, PR, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n. 2, p. 253-260, abr-jun. 2004.

SOUSA, G.M., WANDERLEY, M. G. L., CRUZ-BARROS, M. A. V. Morfologia polínica de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) de Pernambuco, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v.16, p. 21-30. 1997.

SOUSA, G. M.; ESTELITA, M. E. M.; WANDERLEY, M. G. L. Anatomia foliar de espécies brasileiras de *Aechmea* subg. *Chevaliera* (Gaudich, ex Beer) Baker, Bromelioideae-Bromeliaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 3, p. 603-613, jul-set. 2005.

SMITH, L.B., DOWNS, R. J. **Pitcairnioideae (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica Monographs, v.4. 1974. p.1-658.

SMITH, L.B., DOWNS, R. J. **Tillandsioideae (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica Monographs, v. 4. 1977. p. 663-1492

SMITH, L.B. & DOWNS, R. J. **Bromelioideae (Bromeliaceae)**. Flora Neotropica Monographs, v. 4. 1979. p. 1604-1724.

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

TARDIVO, R. C. & RODRIGUES, W. A. Pólen e estigma das espécies de *Nidularium* Leme e *Cansitrum* E. Morren (Bromeliaceae) ocorrentes no Estado do Paraná. **Biotemas**, v.11, n.1, p. 7-16, jul. 1998.

TERRY, R. G.; BROWN, G. K., OLMSTEAD, R. G. Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. **American Journal of Botany**, v. 84, n. 5, p. 664-670, may. 1997a.

TERRY, R.G., BROWN, G. K., OLMSTEAD, R. G. Phylogenetic relationship in subfamilial Tillandsioideae (Bromeliaceae) using *ndhF* sequences. **Systematic Botany**, v. 22, n. 2, p. 333-345, apr-jun. 1997b.

TILL, W. Tillandsioideae. *In*: BENZING, D. H. **Bromeliaceae**: profile of an adaptative radiation. Cambridge University. 2000. 555-569p.

TOMLINSON, P.B. **Anatomy of the monocotyledons – Commelinales - Zingiberales**. Oxford University Press, New York. 1969.

VARADARAJAN, G. S., GILMARTIN, A. J. Foliar scales of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Systematic Botany**, v.12, n. 4, p. 562-571, oct-dec. 1987.

VERVAEKE, I. **Functional anatomical study of the fertilization in Bromeliaceae**. 2002. 309p. Tese (Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen van de K. U. Leuven). 2002.

VERVAEKE, I., et al. Division of the generative nucleus in cultured pollen tubes of the Bromeliaceae. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 76, n. 1, p.17-28, may. 2004.

VERVAEKE, I. et al. The division of the generative nucleus and the formation of callose plugs in pollen tubes of *Aechmea fasciata* (Bromeliaceae) cultured in vitro. **Sexual Plant Reproduction**, v.18, n. 1, p. 9-19, apr. 2005.

VOSGUERITCHIAN, S. B., BUZATO, S. Reprodução sexuada de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) e interação planta-animal. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 3, p. 433-442, jul-set. 2006.

WENDT, T. et al. Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany**, v. 88, n. 10, p. 1760 – 1767, oct. 2001.

ZAVADA, M. S. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of apertures and wall structures. **Botanical Review**, v. 49, n. 4, p.33-379, oct-dec. 1983.