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

CURSO DE MESTRADO

ASPECTOS REPRODUTIVOS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Canistrum* E *Portea* (BROMELIACEAE: BROMELIOIDEAE) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA

Sara Cristina Santos Oliveira

CRUZ DAS ALMAS – BA

2025

ASPECTOS REPRODUTIVOS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Canistrum* E *Portea* (*BROMELIACEAE: BROMELIOIDEAE*) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA

Sara Cristina Santos Oliveira

Licenciada em Ciências Biológicas
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2023

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Everton Hilo de Souza
Coorientadora: Profa. Dra. Fernanda V. D. Souza
Coorientadora: Profa. Dra. Lidyanne Y. S. Aona

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

O48a

Oliveira, Sara Cristina Santos.

Aspectos reprodutivos de espécies dos gêneros Canistrum e Portea (Bromeliaceae: Bromelioideae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica / Sara Cristina Santos Oliveira._ Cruz das Almas, BA, 2025.

113f.; il.

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

Orientador: Prof. Dr. Everton Hilo de Souza.
Coorientadora: Prof. Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza.
Coorientadora: Prof. Dra. Lidyanne Yuriko Saleme Aona.

1.Bromeliácea – Plantas – Floração. 2.Bromeliácea – Biodiversidade – Mata Atlântica (BA). 3.Polinização – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 582.564

Ficha elaborada pela Biblioteca Central da UFRB. Responsável pela Elaboração Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).

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

CURSO DE MESTRADO

ASPECTOS REPRODUTIVOS DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Canistrum* E *Portea* (*BROMELIACEAE: BROMELIOIDEAE*) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE SARA CRISTINA SANTOS OLIVEIRA

Aprovada em: 24 de setembro de 2025

Documento assinado digitalmente
gov.br
EVERTON HILO DE SOUZA
Data: 02/10/2025 11:41:49-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

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

Documento assinado digitalmente
gov.br
CARLOS ALFREDO LOPES DE CARVALHO
Data: 07/10/2025 21:01:06-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Documento assinado digitalmente
gov.br
SIMONE CARTAXO PINTO
Data: 02/10/2025 19:31:53-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Simone Cartaxo Pinto
Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro
Membro externo

Dedicatória

Aos meus pais, que me inspiram e apoiam em cada passo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, por me conceder força e coragem para enfrentar as adversidades que apareceram pelo caminho;

Aos meus pais Maria da Conceição Santos Oliveira e Sinval Santos Oliveira, que me escutaram, acolheram, incentivaram e me forneceram todo apoio necessário para chegar até aqui;

Ao meu irmão Samuel Oliveira e a minha cunhada Juliana Vieira, por todo apoio e carinho que me ofereceram ao longo desses dois anos;

Às minha sobrinhas, Maria Júlia e Maria Cecília, pelos sorrisos, pelo carinho nos dias difíceis, e por todo amor que me ensinam diariamente;

Aos meus tios Maria da Glória e Luiz Antônio, por todo carinho e incentivo que me deram durante todo o processo;

Ao meu namorado Denilson de Almeida, que me escutou, me deu força e me incentivou em todos os momentos que eu pensei em desistir durante esses dois anos;

A minha eterna melhor amiga Erika Coelho (*in memorian*) que infelizmente não poderá comemorar o fim desse ciclo comigo, mas que acompanhou uma parte dessa jornada e me deu incentivo e força necessárias para trilhar o caminho de um sonho que não era só meu!;

Ao meu orientador Everton Hilo de Souza, pela oportunidade, pela colaboração, compreensão, e pelas risadas e aprendizado compartilhado;

A todos os meus colegas do Grupo de Pesquisa em Bromélias, mas em especial, a Gleice Quellen e Iasmin Lima, por provarem que a jornada da pós graduação não precisa ser solitária, mas que pode também ser um espaço de construção de laços que vão além das paredes do laboratório. Meninas, sem vocês eu não teria conseguido!;

Aos meus amigos da graduação Jorge Augusto, Leonardo Alcantara e Erivaldo Bastos, que permaneceram ao meu lado durante essa trajetória e me deram incentivo para chegar até aqui;

Aos meus colegas que fiz durante a pós graduação, por compartilharem conhecimento e sorrisos;

A Embrapa Mandioca e Fruticultura e todos seus funcionários por fornecer toda estrutura e todo apoio necessário para o desenvolvimento da minha pesquisa;

As minhas coorientadoras Fernanda Vidigal e Lydiane Aona por todo apoio prestado;

A Mônica Lanzoni Rossi, pela disponibilidade, pelo conhecimento compartilhado e pelas belíssimas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), parte fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa;

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, por fornecer estrutura física e profissionais competentes e qualificados, contribuindo não apenas para o desenvolvimento da minha pesquisa, mas também para o meu desenvolvimento pessoal;

A Márcio Lacerda, meu orientador no estágio docência. Sua generosidade em compartilhar conhecimento, sua paciência e sua postura humana foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e profissional;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 pelo suporte financeiro durante esses dois anos por meio da bolsa de estudo, fundamental para garantir a minha permanência na pós graduação;

Agradeço ao NAP/MEPA-ESALQ, onde me foi fornecido todo suporte para condução das observações e registros que possibilitaram a obtenção dos meus resultados.

A Elton Martinez Carvalho Leme pelas valiosas contribuições ao trabalho;

A Heidemarie Halbritter, pelas imagens disponibilizadas no PalDat;

A Pedro Schawmbach de Almeida, pelas imagens fornecidas e pelas discussões sobre a morfologia dos grãos de pólen;

Agradeço também aos curadores do Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB), na pessoa de Clarice Martins Ribeiro, e do Herbarium Bradeanum (HB), representados por Sebastião José da Silva Neto e Patrícia da Rosa, pelo apoio e colaboração prestados;

A todos os pesquisadores que desenvolveram as técnicas que foram utilizadas durante a minha pesquisa;

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a execução desta pesquisa, meus sinceros agradecimentos!

Índice

INTRODUÇÃO 9

REVISÃO DE LITERATURA 13

A família Bromeliaceae 13

O gênero *Canistrum* 16

O gênero *Portea* 17

Mata Atlântica e suas Bromeliaceae 18

Biologia floral e reprodutiva 20

REFERÊNCIAS 22

CAPÍTULO 1 - MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA EM *Canistrum* (BROMELIOIDEAE: BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA 29

RESUMO 30

ABSTRACT 31

INTRODUÇÃO 32

MATERIAL E MÉTODOS 34

RESULTADOS E DISCUSSÃO 39

CONCLUSÕES 63

REFERÊNCIAS 64

CAPÍTULO 2 - MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA EM *Portea* (BROMELIOIDEAE: BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA 72

RESUMO 73

ABSTRACT 74

INTRODUÇÃO 75

MATERIAL E MÉTODOS 77

RESULTADOS E DISCUSSÃO 80

CONCLUSÕES 101

REFERÊNCIAS 102

CONSIDERAÇÕES FINAIS 110

ASPECTOS REPRODUTIVOS DE ESPÉCIES DO GÊNEROS *Canistrum* E *Portea* (BROMELIACEAE: BROMELIOIDEAE) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA

RESUMO: Os gêneros *Canistrum* E.Morren e *Portea* K.Koch (Bromelioideae) reúnem espécies de grande importância ecológica e ornamental, muitas delas endêmicas da Mata Atlântica e ameaçadas pela fragmentação do habitat, o que reforça a necessidade de estudos reprodutivos voltados para sua conservação. Este trabalho tem como objetivo geral investigar aspectos da biologia floral dos gêneros *Canistrum* e *Portea*, ampliando o conhecimento sobre morfologia polínica e estigmática, viabilidade dos grãos de pólen e receptividade do estigma. O Capítulo 1, intitulado "Morfologia, viabilidade polínica e receptividade do estigma em *Canistrum* endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica", tem como objetivo caracterizar os grãos de pólen e os estigmas de 13 espécies do gênero, avaliando sua viabilidade polínica e receptividade estigmática em diferentes estádios florais. O Capítulo 2, "Morfologia, viabilidade polínica e receptividade do estigma em *Portea* endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica", aborda oito espécies e busca caracterizar as mesmas estruturas, ressaltando peculiaridades diagnósticas do grupo. Em ambos os capítulos, foram realizadas análises morfométricas dos grãos de pólen por microscopia de luz e eletrônica de varredura, descrições dos estigmas e estiletes, testes de viabilidade (histoquímica e germinação *in vitro*) e análises de receptividade estigmática por ensaios enzimáticos. Os resultados demonstram que *Canistrum* apresenta maior variabilidade polínica, com diferenças em forma, polaridade e ornamentação da exina, enquanto *Portea* mantém padrão mais uniforme, com grãos pantoporados e exina reticulada. Quanto ao estigma, predominam formas conduplicado-espiral em ambos os gêneros, mas *P. filifera* apresenta conduplicado-patente, sugerindo importância taxonômica. A viabilidade polínica é elevada durante a antese, coincidindo com os melhores resultados de germinação *in vitro*, sobretudo no meio SM. A receptividade estigmática atinge níveis máximos na antese e permanece elevada na pós-antese, indicando sincronia entre os grãos de pólen e estigma. De forma integrada, os dados demonstram que *Canistrum* e *Portea* possuem sistemas reprodutivos eficazes, cujas informações são fundamentais para conservação, taxonomia e estratégias de cruzamentos controlados.

PALAVRAS-CHAVE: Bromélia, biologia floral, conservação, taxonomia, palinologia.

REPRODUCTIVE ASPECTS OF SPECIES OF THE GENERA *Canistrum* AND *Portea* (BROMELIACEAE: BROMELIOIDEAE) ENDEMIC TO BRAZIL AND OCCURRING IN THE ATLANTIC FOREST

ABSTRACT: The genera *Canistrum* E.Morren and *Portea* K.Koch (Bromelioideae) comprise species of great ecological and ornamental importance, many of them endemic to the Atlantic Forest and threatened by habitat fragmentation, which highlights the need for reproductive studies to guide their conservation. The main objective of this work is to investigate aspects of the floral biology of the genera *Canistrum* and *Portea*, expanding the knowledge on pollen and stigma morphology, pollen viability, and stigma receptivity. Chapter 1, entitled *"Pollen morphology, viability, and stigma receptivity in Canistrum endemic to Brazil and occurring in the Atlantic Forest"*, aims to characterize pollen grains and stigmas of 13 species of the genus, assessing pollen viability and stigma receptivity across different floral stages. Chapter 2, *"Pollen morphology, viability, and stigma receptivity in Portea endemic to Brazil and occurring in the Atlantic Forest"*, addresses eight species and characterizes the same structures, highlighting diagnostic peculiarities of the group. In both chapters, morphometric analyses of pollen grains were performed using light and scanning electron microscopy, along with descriptions of stigmas and styles, viability tests (histochemical staining and *in vitro* germination), and stigma receptivity analyses through enzymatic assays. The results show that *Canistrum* exhibits greater pollen variability, with differences in shape, polarity, and exine ornamentation, while *Portea* maintains a more uniform pattern, with pantoporate grains and reticulate exine. Regarding the stigma, the conduplicate-spiral form predominates in both genera, but *P. filifera* displays the conduplicate-patent type, suggesting taxonomic relevance. Pollen viability is high during anthesis, coinciding with the best *in vitro* germination results, especially in SM medium. Stigma receptivity reached maximum levels at anthesis and remains high in post-anthesis, indicating synchrony between pollen and stigma. Taken together, the data demonstrate that *Canistrum* and *Portea* possess efficient reproductive systems, and such information is fundamental for conservation, taxonomy, and strategies for controlled hybridization.

KEYWORDS: Bromeliad, floral biology, conservation, taxonomy, palynology.

INTRODUÇÃO

A família Bromeliaceae Juss. compreende um grupo de plantas neotropicais amplamente diversificado, caracterizado por alta taxa de endemismo e papel ecológico relevante nos ecossistemas em que ocorre (Benzing, 2000; Kessous et al., 2024). Além da diversidade morfológica e funcional, muitas espécies exercem funções-chave na manutenção da biodiversidade, fornecendo recursos a polinizadores e formando micro-habitats (Ladino et al., 2019).

A Mata Atlântica, um dos principais domínios de ocorrência das Bromeliaceae, é reconhecida como um *hotspot* global de biodiversidade, mas enfrenta um severo processo de fragmentação e perda de habitat (Esser et al., 2019).

No estado da Bahia, a situação é ainda mais crítica, com apenas 11,7% da vegetação original remanescente, que anteriormente cobria cerca de 32% do território estadual (SOS Mata Atlântica, 2021). Esse cenário impacta diretamente a sobrevivência de diversas espécies vegetais, incluindo as espécies de Bromeliaceae endêmicas e de distribuição restrita, muitas das quais se encontram ameaçadas pela degradação ambiental e pela perda de habitat.

Diante desse contexto, estudos voltados à biologia floral e reprodutiva tornam-se fundamentais para ampliar o conhecimento taxonômico e embasar ações de conservação. A compreensão dos mecanismos reprodutivos, dos padrões de polinização e das barreiras à reprodução é fundamental para subsidiar a formulação de estratégias de manejo e preservação de espécies vulneráveis. Esses aspectos são especialmente relevantes para a dinâmica populacional e para a manutenção da diversidade genética em ambientes fragmentados (Mantovani et al., 2003).

Apesar da importância ecológica e conservacionista das Bromeliaceae, ainda são escassas as informações sobre os sistemas reprodutivos e a biologia floral de muitos de seus representantes. No caso dos gêneros *Canistrum* E.Morren e *Portea* Brongn. & K.Koch (subfamília Bromelioideae), ambos endêmicos do Brasil e com ocorrência na

Mata Atlântica baiana, há uma evidente lacuna de conhecimento que limita o entendimento sobre suas estratégias de reprodução e potencial adaptativo. A ausência de dados reprodutivos compromete iniciativas de conservação, especialmente em um cenário de rápida perda de habitat.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo investigar a biologia floral e os aspectos reprodutivos de espécies dos gêneros *Canistrum* e *Portea*, contribuindo para o conhecimento sobre morfologia reprodutiva, viabilidade polínica, receptividade estigmática.

O trabalho está dividido em dois capítulos, que abrangem estudos sobre morfologia, viabilidade polínica e receptividade do estigma de espécies de *Canistrum* e *Portea*.

O capítulo 1, intitulado "**Morfologia, viabilidade polínica e receptividade do estigma em *Canistrum* (Bromelioideae: Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica**", tem como objetivo caracterizar a morfologia dos grãos de pólen e do estigma em 13 espécies de *Canistrum* (Figura 1), além de avaliar a viabilidade polínica e a receptividade do estigma por meio de diferentes metodologias e estádios de desenvolvimento floral.

O capítulo 2, "**Morfologia, viabilidade polínica e receptividade do estigma em *Portea* (Bromelioideae: Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica**", busca analisar a morfologia dos grãos de pólen e do estigma em oito espécies de *Portea* (Figura 2), além de avaliar viabilidade polínica e receptividade do estigma em diferentes metodologias e estádios de desenvolvimento floral.



Figura 1. Espécies de *Canistrum* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A) *Canistrum alagoanum* Leme & J.A.Siqueira. B) *Canistrum aurantiacum* É.Morren. C) *Canistrum auratum* Leme. D) *Canistrum camacaense* Martinelli & Leme. E) *Canistrum fosterianum* L.B.Sm. F) *Canistrum guzmanioides* Leme. G) *Canistrum improcerum* Leme & J.A.Siqueira. H) *Canistrum lanigerum* H.Luther & Leme; I) *Canistrum montanum* Leme. J) *Canistrum pickelii* (A.Lima & L.B.Sm.) Leme & J.A.Siqueira. K) *Canistrum sandrae* Leme. L) *Canistrum seidelianum*

W.Weber. M) *Canistrum triangulare* L.B.Sm. & Reitz. Fotos: A, H, I, J, K) S.C.S.Oliveira. B, C, D, E, F, G, M) E.H.Souza



Figura 2. Espécies de *Portea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A) *Portea alatisepala* Plicox. B) *Portea filifera* L.B.Sm.. C) *Portea fosteriana* L.B.Sm. D) *Portea grandiflora* Plicox. E) *Portea nana* Leme & H.Luther. F) *Portea petropolitana* (Wawra) Mez. G) *Portea kermesina* K.Koch. H) *Portea silveirae* Mez. Fotos: A, B, D, F) E.H.Souza; E, G) E.J.Gouda; H) A.Wilson.

REVISÃO DE LITERATURA

A família Bromeliaceae

A família Bromeliaceae Juss., pertencente à ordem Poales (APG IV, 2016), é endêmica das Américas e apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina e Chile. Atualmente, são reconhecidos 82 gêneros e 3.781 espécies no mundo (Gouda et al., 2025, atualização contínua). O Brasil abriga cerca de 1.713 espécies de Bromeliaceae, o que representa quase metade da diversidade global da família. Essa expressiva riqueza posiciona o país como um dos principais centros de diversidade da família, com representantes ocorrendo em praticamente todos os ecossistemas, desde áreas semiáridas até florestas ombrófilas. Na Bahia, são registradas 358 espécies distribuídas em 32 gêneros, presentes nos três principais domínios fitogeográficos do estado: Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado (Forzza et al., 2025).

Do ponto de vista morfológico, Bromeliaceae é caracterizada por folhas alternas dispostas em espiral, frequentemente formando rosetas que armazenam água na base, criando tanques que servem como microhabitats para diversas espécies animais (Pittendrigh, 1948; Smith e Downs, 1974; Benzing, 2000). A presença de tricomas peltados, responsáveis pela captação de água e nutrientes diretamente da atmosfera, constitui uma adaptação marcante, especialmente nas espécies epífitas (Benzing, 2000; Crayn et al., 2004). Essas estruturas contribuem para a sobrevivência em ambientes com disponibilidade irregular de recursos, como rochas expostas e dosséis florestais (Schulte et al., 2009).

Bromeliaceae apresenta ampla diversificação ecológica, ocupando habitats que vão desde o nível do mar até altitudes superiores a 4.000 metros. As espécies ocorrem em ambientes tão distintos quanto os pântanos de ciprestes no sul dos Estados Unidos, a fria puna andina e o árido deserto do Atacama (Smith e Downs, 1974; Benzing, 2000; Givnish et al., 2011). Estudos de biogeografia histórica sugerem que a origem da família remonta ao Escudo das Guianas, há cerca de 100 milhões de anos, de onde se dispersou para outras regiões da América tropical e subtropical (Givnish et al., 2011).

A transição do hábito terrestre para o epifitismo, uma das principais chaves para a radiação adaptativa da família, permitiu a exploração de novos nichos ecológicos e está associada ao desenvolvimento de estruturas especializadas, como os tricomas

absorventes (Benzing, 2000). Essa radiação é considerada uma das mais recentes e rápidas entre as angiospermas (Givnish et al., 2007).

Apesar do notável potencial adaptativo, estima-se que cerca de 72% das espécies de Bromeliaceae (2.638 spp.) estejam ameaçadas de extinção (Zizka et al., 2019). A maioria dessas espécies (77%, 1.928 spp.) ocorre predominantemente em florestas tropicais e subtropicais úmidas de folhas largas, com destaque para a Mata Atlântica e os Andes Centrais (Zizka et al., 2019).

Dentre essas, mais de 247 espécies já constam oficialmente como ameaçadas no Brasil, sendo 40 classificadas como “Vulneráveis”, 142 como “Em Perigo” e 65 como “Criticamente em Perigo” (Forzza et al., 2013; Brasil, 2022). É importante destacar, no entanto, que a maior parte das espécies da família ainda não foi formalmente avaliadas, o que sugere que os números atuais podem estar subestimados. Essa situação é particularmente evidente em gêneros endêmicos da Mata Atlântica, como *Canistrum* e *Portea*, cuja restrição geográfica e especificidade de habitat as tornam altamente suscetíveis à fragmentação florestal e às mudanças ambientais.

No gênero *Canistrum*, por exemplo, oito das 13 espécies conhecidas estão oficialmente ameaçadas de extinção, com uma classificada como “Criticamente em Perigo”, seis como “Em Perigo” e uma como “Vulnerável” (Forzza et al., 2013; Brasil, 2022). Já no gênero *Portea*, cinco das nove espécies existentes encontram-se em categorias de risco, sendo três “Em Perigo” e duas “Vulneráveis”. Ainda que algumas espécies não estejam atualmente listadas como ameaçadas, sua distribuição geográfica restrita sugere um elevado potencial de vulnerabilidade (Forzza et al., 2013; Brasil, 2022). Diante disso, é plausível considerar que a totalidade das espécies desses gêneros possa estar sob algum grau de ameaça.

Segundo Givnish et al. (2011), Bromeliaceae está subdividida em oito subfamílias: Bromelioideae, que reúne a maior diversidade genética e inclui gêneros como *Ananas* Mill., *Aechmea* Ruiz & Pav. e *Hohenbergia* Schult. f.; Tillandsioideae, com destaque para os gêneros *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L.; Brocchinioideae, considerada a linhagem filogeneticamente mais basal, composta apenas pelo gênero *Brochinia* Schult. f.; Lindmanioideae, que inclui os gêneros *Connellia* N.E.Br. e *Lindmania* Mez; Puyoideae, com o gênero exclusivo *Puya* Molina; Navioideae, com *Navia* Schult. & Schult. f. e gêneros relacionados; Hechtioideae, composta pelo gênero *Hechtia* Klotzsch; Pitcairnioideae, que abrange, entre outros, os gêneros *Pitcairnia* L’Hér, *Dyckia* Schult. & Schult. f. e *Encholirium* Mart. ex Schult & Schult. f.

Uma característica marcante de Bromeliaceae é a capacidade das folhas, muitas vezes dispostas em rosetas, de formar tanques centrais que retêm água da chuva. Esses tanques, também denominados fitotelmas, abrigam uma rica biodiversidade, incluindo insetos, artrópodes, crustáceos e anfíbios, criando um microclima propício para diversas interações ecológicas. Tais estruturas tornam Bromeliaceae elementos-chave na estruturação de comunidades biológicas em ecossistemas tropicais (Romero et al., 2010). Além disso, a presença da via fotossintética CAM e de tricomas absorventes proporciona mecanismos eficientes para resistir à seca e para captar e conservar nutrientes, especialmente em ambientes como rochas expostas ou poleiros epífitos (Pittendrigh, 1948; Smith e Downs, 1974; Crayn et al., 2004; Givnish et al., 2007; Schulte et al., 2009).

As espécies de Bromeliaceae contribuem significativamente para a diversidade total de epífitas vasculares nas florestas neotropicais. Sua riqueza é mais expressiva em altitudes médias, com padrões crescentes de endemismo em altitudes elevadas (Kessler, 2001; Krömer et al., 2005; Linares-Palomino et al., 2009; Linares-Palomino e Kessler, 2009; Givnish et al., 2011). O aspecto exótico, a coloração vibrante e a imponência de muitas espécies de Bromeliaceae despertam grande interesse do mercado de plantas ornamentais. Essas plantas são amplamente utilizadas no paisagismo de parques e jardins, bem como em cultivos domésticos, seja em vasos, canteiros ou suspensas como epífitas em copas de árvores, arames e suportes decorativos. Espécies de *Tillandsia*, por exemplo, são conhecidas por sua capacidade de crescimento aéreo, sem necessidade de substrato (Barfuss et al., 2016; Leodegário et al., 2020; 2021).

Além do uso ornamental, algumas espécies de Bromeliaceae possuem aplicações alimentares [*Ananas comosus* (L.) Merr.], na produção de fibras biodegradáveis (Souza et al., 2018), e como fontes de enzimas e compostos bioativos de interesse farmacológico. Esses múltiplos usos são complementados pela complexidade ecológica da família, especialmente em seus sistemas reprodutivos, que revelam interações altamente especializadas com a fauna.

A diversidade de sistemas de polinização em Bromeliaceae inclui ornitofilia (aves), quiropterofilia (morcegos), entomofilia (insetos), estratégias mistas e até autogamia (Kessler e Krömer, 2000; Bastos et al., 2017). A produção de néctar, presente em grande parte das espécies da família, representa a principal recompensa oferecida aos polinizadores e está diretamente associada à atração e à manutenção dessas interações

ecológicas (Kessler e Krömer, 2000; Canela e Sazima, 2003; Wendt et al., 2008; Schmid et al., 2011).

O gênero *Canistrum*

O gênero *Canistrum* foi descrito em 1873 por Édouard Morren, a partir da espécie *Canistrum aurantiacum*. Em 1889, Baker reclassificou o grupo como um subgênero de *Aechmea* Ruiz & Pav., transferindo para este todas as espécies então conhecidas. Poucos anos depois, em 1891, Mez reverteu essa decisão e restabeleceu *Canistrum* como gênero aceito. Atualmente, são reconhecidas cerca de 13 espécies válidas de *Canistrum* (Gouda et al., 2025, atualização contínua). O gênero é subdividido em dois subgêneros: *Canistrum* (homônimo) e *Cucullatanthus* Leme (Gouda et al., 2025, atualização contínua). Contudo, análises filogenéticas apontam que *Canistrum* é polifilético, indicando que as espécies atualmente incluídas não compartilham um ancestral exclusivo, o que compromete a monofilia do gênero (Leme, 1997).

A origem do nome "*Canistrum*" deriva do grego *kanos*, que significa "cesto repleto de flores" (Siqueira Filho e Machado, 2001), fazendo alusão a uma de suas características morfológicas mais marcantes: a inflorescência densa, composta por grande número de flores. Dentro da família Bromeliaceae, as espécies de *Canistrum* estão entre aquelas que apresentam as inflorescências mais numerosas, podendo conter de 90 a 500 flores por unidade (Tardivo e Cervi, 1997). Essa abundância floral pode estar associada à estratégia reprodutiva da planta, baseada na atração eficaz de polinizadores. Para isso, investem na produção de flores em grande quantidade, com variações de cores, formas e aromas, buscando maximizar o sucesso reprodutivo por meio da polinização cruzada (Faegri e van der Pijl, 1979).

As espécies do gênero *Canistrum* podem apresentar hábito epífito, terrícola, rupícola ou saxícola. As folhas são dispostas em roseta, variando de patentes a eretas; as bainhas foliares são ovais, amplas, de coloração verde a marrom-escura, variando de glabrescentes a densamente lepidotas. As lâminas foliares vão de membranosas a coriáceas, lineares a lanceoladas, afiladas em direção à base, glabrescentes ou com presença esparsa a densa de lepidotas em ambas as faces, geralmente verdes, com ápice agudo e margens inteiras a denteadas.

O pedúnculo pode ser curto ou alongado, exposto ou totalmente recoberto por brácteas, ereto ou geniculado próximo ao ápice, com coloração variando entre verde e marrom. A inflorescência é composta, corimbosa, cupuliforme, multifloral e densa, com

eixo central curto ou alongado, envolvida por brácteas involucrais longas, que variam do esverdeado ao vermelho, amarelo ou laranja, com margens inteiras ou denteadas, ápice apiculado ou agudo, e consistência membranosa a cartácea. As brácteas florais geralmente ultrapassam o comprimento das sépalas e apresentam as mesmas cores das brácteas involucrais. As flores são sésseis ou curto-pediceladas, eretas; sépalas livres ou conatas na base, assimétricas, com margens inteiras, glabras a lanuginosas e ápice agudo a mucronado. As pétalas são livres, com dois apêndices petalíneos; os estames são inclusos. O fruto é do tipo baga (Forzza et al., 2025, atualização contínua).

O gênero *Portea*

O gênero *Portea* foi validamente publicado por Karl Koch em 1856, tendo como espécie-tipo *P. kermesina* Brongniart ex K.Koch. O nome homenageia o naturalista francês Marius Porte (1811–1866), responsável por expedições botânicas na Ásia tropical e pela coleta de material para jardins botânicos europeus (Costantin, 1934). Atualmente, *Portea* é composto por nove espécies, sendo a mais recente *Portea santosiana* Leme & E.H.Souza, publicada em 2025 e não abordada nesta dissertação (Gouda et al., 2025, atualização contínua).

Trata-se de um gênero endêmico do Brasil, com distribuição restrita aos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e, especialmente, Bahia, onde ocorre a maior diversidade de táxons (Martinelli et al., 2008). As espécies de *Portea* habitam preferencialmente áreas de Mata Atlântica, ocorrendo desde florestas ombrófilas densas até formações de restinga sobre solos arenosos e sob pleno sol. Pode apresentar hábito epífito, saxícola (em afloramentos rochosos) ou terrícola, refletindo uma notável plasticidade ecológica (Rauh, 1990).

As espécies de *Portea* são de médio a grande porte e apresentam grande similaridade vegetativa com representantes dos gêneros *Aechmea* Ruiz & Pav e *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. , especialmente no que diz respeito à morfologia foliar e hábito de crescimento. Essa semelhança já motivou a transferência de algumas espécies de *Portea* para *Aechmea*, conforme estudos taxonômicos mais recentes (Forzza et al., 2025, atualização contínua). No entanto, características florais e de inflorescência sustentam a validade do gênero como um grupo distinto dentro da subfamília Bromelioideae (Almeida et al., 2020).

As folhas são dispostas em rosetas, com bainhas foliares geralmente elípticas, de coloração castanha a marrom-escura, podendo ser glabras ou revestidas por tricomas

lepidotos. As lâminas foliares variam de cartáceas a coriáceas, com forma linear a lanceolada, progressivamente estreitadas em direção ao ápice, ápice agudo e mucro terminal. A margem foliar é espinescente e ambas as faces da lâmina apresentam indumento lepidoto, o que pode contribuir para a proteção contra radiação solar intensa e perda de água por transpiração (Benzing, 2000).

O pedúnculo floral é variável quanto ao comprimento, podendo ser encurtado ou alongado, geralmente ereto, com coloração verde a rósea-avermelhada. As brácteas do pedúnculo são frequentemente imbricadas e ligadas na base, contribuindo para o aspecto ornamental da inflorescência. A inflorescência, em geral muito vistosa, é composta, paniculada e multiflora, com eixo central que pode ser curto ou alongado. As brácteas primárias podem ser maiores ou menores que os ramos laterais da inflorescência (Almeida et al., 2020).

As flores são pediceladas ou subsésseis, eretas, com pedicelo que varia de robusto a delgado (Givnish et al., 2014). As sépalas são conatas (fundidas na base), assimétricas e frequentemente aladas, com ápice mucronado. As pétalas são livres, com coloração variando entre lilás, azulada, rósea ou branca, e os estames são exsertos, ou seja, projetam-se além das pétalas. O ovário é ínfero, e o fruto é do tipo baga, geralmente claviforme (em forma de clava) (Givnish et al., 2014).

Além de sua relevância ecológica como parte da flora exclusiva da Mata Atlântica, várias espécies do gênero *Portea* são valorizadas como plantas ornamentais devido à exuberância de suas inflorescências coloridas e à robustez de suas rosetas foliares. No entanto, a degradação contínua dos habitats costeiros e florestais em que ocorrem representa uma ameaça significativa à conservação dessas espécies, muitas das quais apresentam distribuição geográfica restrita (Ferreira et al., 2024; Almeida Junior et al., 2025).

Mata Atlântica e suas Bromeliaceae

O domínio fitogeográfico da Mata Atlântica se estende por grande parte do litoral brasileiro, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, com incursões pelo interior em áreas de maior altitude. Originalmente, a Mata Atlântica cobria cerca de 1,3 milhão de km², mas atualmente restam apenas aproximadamente 24,3% de sua extensão original, considerando tanto florestas maduras quanto formações secundárias. No entanto, áreas de florestas maduras e bem preservadas representam apenas 12,4% do bioma (SOS Mata Atlântica, 2025).

Caracteriza-se por uma elevada diversidade ambiental, com múltiplas fitofisionomias, incluindo florestas ombrófilas densas e mistas, florestas estacionais semideciduais e deciduais, além de ecossistemas associados como restingas, manguezais e campos de altitude (IBGE, 2012). Essa diversidade estrutural contribui para a complexidade ecológica e o alto número de espécies endêmicas que compõem esse domínio.

Reconhecida como um dos 36 *hotspots* mundiais de biodiversidade (Myers et al., 2000), a Mata Atlântica abriga mais de 20 mil espécies de plantas, das quais cerca de 50% são endêmicas (Rezende et al., 2018). No entanto, sofre intensa degradação provocada por desmatamento, expansão urbana e agrícola, exploração madeireira e mudanças climáticas. O relatório anual da SOS Mata Atlântica (2021) aponta esse domínio como o segundo com maior proporção de alertas de desmatamento no Brasil, evidenciando uma tendência preocupante de perda da biodiversidade.

Nesse contexto, a família Bromeliaceae se destaca como um dos grupos mais representativos. Na Mata Atlântica foram registradas 803 espécies, 150 táxons infraespecíficos e 31 gêneros (Martinelli et al., 2008), com elevado grau de endemismo e importância ecológica, sobretudo pela interação com polinizadores e fauna associada (Martinelli et al., 2008).

Vários gêneros são exclusivos da Mata Atlântica, como *Canistropsis* (Mez) Leme, *Canistrum* É.Morren, *Edmundoa* Leme, *Fernseea* Baker, *Lymania* R.W.Read, *Nidularium* Lem., *Portea* Brongn. & K.Koch, *Quesnelia* Gaudich. e *Wittrockia* Lindm., além de outros descritos mais recentemente, como *Pseudaraeococcus* (Mez) R.A.Pontes & Versieux, *Karawata* J.R.Maciel & G.Sousa, *Rokautskyia* Leme, S.Heller & Zizka e *Stigmatodon* Leme, G.K.Br. & Barfuss (Forzza et al., 2025, atualização contínua). Embora não endêmicos, os gêneros *Vriesea* Lindl., *Aechmea*, *Neoregelia* L.B.Sm., *Alcantarea* (É.Morren ex Mez) Harms*, Cryptanthus* Osbeck têm na Mata Atlântica seus principais centros de diversidade (Forzza et al., 2025, atualização contínua).

A intensa fragmentação e a degradação dos habitats colocam muitas dessas espécies em risco de extinção. Assim, estudos reprodutivos tornam-se essenciais para subsidiar estratégias de conservação, ampliando o conhecimento taxonômico e superando barreiras reprodutivas identificadas a partir da análise das estruturas florais. Essas informações são fundamentais para a compreensão da dinâmica populacional e para a sobrevivência de espécies ameaçadas (Mantovani et al., 2003).

Biologia floral e reprodutiva

O estudo da biologia floral e do sistema reprodutivo são essenciais para compreender os processos de polinização, fecundação e formação de frutos e sementes (Silva et al., 2025a). Tais análises permitem elucidar as interações entre grãos de pólen, estigma, visitantes florais e os mecanismos envolvidos na atração e no sucesso da polinização (Revanasidda e Belavadi, 2019; Adithiyaa et al., 2020; Nascimento et al., 2024). Além disso, o comportamento dos polinizadores e a estrutura reprodutiva das flores são fatores determinantes para o sucesso reprodutivo de uma espécie (Silva et al., 2025a).

De acordo com Rincón-Rabanales et al. (2016), os estudos reprodutivos também são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias voltadas ao aumento da produtividade agrícola, por meio do manejo de polinizadores eficientes e da promoção da polinização cruzada. Esses estudos são igualmente relevantes para a formulação de estratégias de conservação *in situ* e para programas de melhoramento genético, especialmente quando se busca a aplicação de técnicas de polinização artificial visando à hibridização (Pyke, 2016; Nascimento et al., 2024).

A compreensão de aspectos como o momento da antese, a viabilidade do pólen, a receptividade do estigma, o sistema reprodutivo e os visitantes florais é crucial para o delineamento de estratégias eficientes de cruzamentos e conservação (Souza et al., 2017; Mota et al., 2023; 2024; Fagundes et al., 2024). Dentre esses elementos, a viabilidade do pólen é particularmente importante, pois fornece estimativas sobre a capacidade reprodutiva de uma espécie, cultivar ou população (Souza et al., 2017; Mota et al., 2023; 2024; Fagundes et al., 2024; Nascimento et al., 2025; Silva et al., 2025b). Durante o processo de fecundação, a avaliação da viabilidade polínica é indispensável, sendo um indicador-chave para a conservação, o melhoramento genético e a produção agrícola (Souza et al., 2017; Mota et al., 2023; 2024; Fagundes et al., 2024; Silva et al., 2025b; Nascimento et al., 2025).

A viabilidade dos grãos de pólen pode ser avaliada por métodos diretos, como a germinação *in vitro* ou *in vivo* (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017). A germinação *in vitro* permite observar o crescimento do tubo polínico sob condições controladas (Souza et al., 2015; 2017; Mota et al., 2024), enquanto a germinação in vivo representa a única metodologia capaz de confirmar, de fato, a capacidade do pólen em fecundar os óvulos (Souza et al., 2015, 2017; Mota et al., 2023; Silva et al., 2025b; Nascimento et al., 2025).

Já os métodos indiretos baseiam-se na coloração de grãos de pólen com corantes histoquímicos, que revelam a integridade celular e a atividade enzimática, indicando a viabilidade com alto grau de confiança (Shivanna e Rangaswamy, 1992; Kearns e Inouye, 1993; Vargas et al., 2009; Souza et al., 2015; Mota et al., 2024). Dentre os corantes mais utilizados destacam-se o carmim acético, azul de anilina, azul de algodão, iodeto de potássio (Sharma e Sharma, 1994), 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (Shivanna e Rangaswamy, 1992), diacetato de fluoresceína (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1970) e a solução de Alexander (1969; 1980).

A coloração citológica dos grãos de pólen é importante para inferir a integridade cromossômica, protoplasmática e da parede celular (Alexander, 1969; Kearns e Inouye, 1993), além de avaliar a atividade de enzimas desidrogenases, como no caso do trifeniltetrazólio (Shivanna e Rangaswamy, 1992). Embora os testes indiretos não assegurem a capacidade de fertilização, são amplamente utilizados devido à praticidade e confiabilidade, especialmente quando associados a corantes sensíveis (Dafni, 1992; Souza et al., 2016).

A viabilidade polínica pode ser influenciada por fatores genéticos, fisiológicos e ambientais, incluindo temperatura, umidade relativa e presença de oxigênio no ambiente de armazenamento (Ferreira et al., 2007). Tais variáveis devem ser cuidadosamente controladas, sobretudo em programas de conservação de germoplasma e criopreservação (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017).

Além dos grãos de pólen, a receptividade estigmática também exerce papel determinante no sucesso reprodutivo. Para que ocorra a germinação do grão de pólen e, consequentemente, a fertilização, é necessário que o estigma esteja receptivo, apresentando condições adequadas para a adesão e o crescimento do tubo polínico (Stone et al., 1995; Souza et al., 2016). Em Bromeliaceae, a morfologia estigmática é relativamente conservada, e sua receptividade pode influenciar diretamente as taxas de autopolinização (Souza et al., 2016; 2020).

A avaliação da receptividade estigmática é especialmente relevante em programas de melhoramento genético, pois contribui para a seleção de genitores e para o sucesso das hibridações (Souza et al., 2016; 2020). O conhecimento detalhado dos sistemas reprodutivos é, portanto, um passo fundamental em estudos de genética e melhoramento, visto que define as estratégias mais adequadas para a manipulação reprodutiva e o aproveitamento do potencial genético da espécie (Sebbenn et al., 2000; Souza et al., 2017).

REFERÊNCIAS

ADITHIYAA, T.; CHANDRAMOHAN, D.; SATHISH, T. Flower pollination algorithm for the optimization of stair casting parameter for the preparation of AMC. **MaterialsToday,** v. 21, n. 4, p. 882-886, 2020.

ALEXANDER, M. P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. **Stain Technology**, v. 44, n. 1, p. 117-22, 1969.

ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bactéria. **Stain Technology**, v. 55, n. 1, p.13-18,1980.

ALMEIDA JUNIOR, R.A.C.; CRUZ, C.R.P.; FERNANDEZ, E.P.; BICALHO, M.B.; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; LEME, E.M.C.; SOUZA, E.H. From field data to policy action: assessing the distribution and conservation of *Quesnelia* (Bromelioideae: Bromeliaceae), an endemic genus of the Atlantic Forest hotspot. **Journal of Nature Conservation**, v. 86, p. 126940, 2025.

ALMEIDA, M.M.; TAVARES, A.L.; KESSOUS, I.M. ***Portea* in Flora e Funga do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB6324>. Acesso em: 29 ago. 2025

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

BAKER, J. G. **Handbook of the Bromeliaceae.** London: George Bell & Sons, 1889. 486 p.

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

BASTOS, M.J.S.M.; BASTOS, L.P.; SOUZA, E.H.; SOARES, T.L.; MORAIS, D.V.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C. Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, p. 665-676, 2017.

BENZING, D. H. **Bromeliaceae:** Profile of an Adaptive Radiation. Cambridge University Press, Cambridge, 2000, 690 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022. **Atualiza as listas oficiais das espécies da flora e da fauna brasileiras ameaçadas de extinção**. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 109, p. 76–82, 8 jun. 2022. Disponível em: https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733. Acesso em: 4 jun. 2025.

CANELA, M.B.F.; SAZIMA, M. *Aechmea pectinata*: a hummingbird-dependent bromeliad with inconspicuous flowers from the rainforest in south-eastern Brazil. **Annals of botany**, v. 92, n. 5, p. 731-737, 2003.

COSTANTIN, J. **Aperçu historique des progrès de la botanique depuis cent ans (1834-1934).** Paris: Masson, 1934.

CRAYN, D.M.; WINTER, K.; SMITH, J.A.C. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 10, p. 3703-3708, 2004.

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

ESSER, L.F.; NEVES, D.M; JARENKOW, J.A. Habitat-specific impacts of climate change in the Mata Atlântica biodiversity hotspot. **Diversity and Distributions,** v. 25, p. 1846–1856, 2019.

FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **The principles of pollination ecology**. 3. ed. Oxford: Pergamon Press, 1979. 244 p.

FAGUNDES, A.; SOUZA, E.H.; SILVEIRA, F.L.; MACHADO, I.C.; SIQUEIRA-FILHO, J. Autogamy ensures reproductive success in the bromeliad *Dyckia dissitiflora* Schult.f., endemic to the Brazilian caatinga domain. **Plant Species Biology**, v.39, n. 5, p.1-15, 2024.

FERREIRA, C.A.; PINHO, E.V.R.V.; ALVIM, P.O.; ANDRADE, V.; SILVA, T.T.A.; CARDOSO, D.L. Conservação e determinação da viabilidade de grão de pólen de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 6, n. 2, p. 159–173, 2007.

FERREIRA, G.M.D.; LEME, E.M.C.; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; MOURA, H.C.P.; SOUZA, E.H. Microendemism, high diversity and taxonomic novelties in Bromeliaceae: Studies from an Atlantic Forest hotspot in Bahia, Brazil. **Journal for Nature Conservation**, v. 79, e. 126599, 2024.

FORZZA, R.C.; COSTA, A.F.; LEME, E.M.C.; VERSIEUX, L.M.; WANDERLEY, M.G.L.; LOUZADA, R.B.; MONTEIRO, R.F.; JUDICE, D.M.; FERNANDEZ, E.P.; GORGES, R.A.X.; PENEDO, T.S.A.; MONTEIRO, N.P.; MORAE, M.A. Bromeliaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M.A. **Livro Vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. pp. 315-396.

FORZZA, R.C.; COSTA, A.F.; MACIEL, J.R.; KESSOUS, I.M.; MONTEIRO, R.F.; FARIA, A.P.G.; TARDIVO, R.C.; BÜNEKER, H.M.; SARAIVA, D.P.; MOREIRA, B.A.;JACQUES, S.S.A.; ALMEIDA, M.M.; SANTOS-SILVA, F.; LOUZADA, R.B.;MOURA, R.L.; COUTO, D.R.; NEVES, B.; OLIVEIRA, F.M.C.; ARAÚJO, C.C.; GONÇALVES-OLIVEIRA, R.C.; VERSIEUX, L.M.; ROMANINI, R.P.; MACHADO,T.M.; SILVA, R.S.A.; SOUZA, B.P.; GOMES-DA-SILVA, J.; URIBBE, F.P. ;GUARÇONI, E.A.E.; SOUSA, L.O.F.; PONTES, R.A.S.; NOGUEIRA, M.G.C.;SOUSA, G.M.; KOCH, A.K.; PICANÇO, W.L.; CARDOSO, P.H.; MARTINS, S.E.; BARBOSA-SILVA, R.G.; WANDERLEY, M. G. L. **Bromeliaceae**

in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB66. Acesso em: 12 ago. 2025.

GIVNISH, T.J.; BARFUSS, M.H.J.; VAN, E.E.B.; RIINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; SYTSMA, K.J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, v. 98, n. 5, p. 872-895, 2011.

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, J.A.C.; WINTER, K.; BROWN, G)K.; EVANS, T.M.; HOLST, B.K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P.E.; SYTSMA, K.J. Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution,** v. 71, p. 55-78, 2014.

GIVNISH, T.J.; MILLAM, K.C.; BERRY, P.E.; SYTSMA, K.J. Phylogeny, Adaptive Radiation, and Historical Biogeography of Bromeliaceae Inferred From ndhF Sequence Data. **Alisio**, v. 23, p. 3 26, 2007.

GOUDA, E.J.; BUTCHER, D.; DIJKGRAAF, L. **Encyclopaedia of Bromeliads, Version 5**. 2023. Disponível em: http://bromeliad.nl/encyclopedia/ Utrecht University Botanic Gardens. Acesso em: 05 ago. 2025.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. **Stain technology**, v. 45, n. 3, p. 115-120, 1970.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Manual Técnico da Vegetação Brasileira.** 2. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv63011.pdf. Acesso em: 5 set. 2025.

KEARNS, C.A.; INOUYE, D.W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, 1993. 583 p.

KESSLER, M. Patterns of diversity and range size of selected plant groups along an elevational transect in the Bolivian Andes. **Biodiversity and Conservation**, v. 10, p. 1897-1921, 2001.

KESSLER, M.; KRÖMER, T. Patterns and ecological correlates of pollination modes among bromeliad communities of Andean forests in Bolivia. **Plant Biology**, v. 2, n. 6, p. 659–669, 2000.

KESSOUS, I. M., FAROOQ, H.; TESTO, W.; JIMÉNEZ, M.F.T.; NEVES, B.; PINTO, A.R.; SALGUEIRO, F.; COSTA, A.F.; BACON, C.D. New insights into the classification, diversification, and evolutionary dynamics of bromeliads. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 208, n. 3, p. 242-255, 2024.

KRÖMER, T.; KESSLER, M.; GRADSTEIN, S.R.; ACEBEY, A. Diversity patterns of vascular epiphytes along an elevational gradient in the Andes. **Journal of Biogeography,** v. 32, n. 11, p. 1799-1809, 2005.

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

LEME, E.M.C. ***Canistrum***, Bromélias da Mata Atlântica. Rio de Janeiro: Ed. Salamandra, 1997, 107 p.

LEODEGARIO, M.M.; CAVALCANTE, B.P.; AONA, L.Y.S.; WANDERLEY, M.G.L.; SOUZA, E.H. *Tillandsia itatiensis*: a new species of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, v. 456, p. 186-194, 2020.

LEODEGARIO, M.M.; CAVALCANTE, B.P.; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; WANDERLEY, M.G.L.; SOUZA, E.H. Unexpected finds in Bahia: first records of five species of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae). **Check List**, v. 17, p. 13-20, 2021

LINARES-PALOMINO, R.; KESSLER, M. The role of dispersal ability, climate and spatial separation in shaping biogeographical patterns in seasonally dry Andean forests of Bolivia. **Journal of Biogeography**, v. 36, p. 280-290, 2009.

LINARES-PALOMINO, R.; CARDENAS, G.; FERIA, M.V.; GARCÍA, H.; GRADSTEIN, S.R.; KESSLER, M.; LEHNERT, M.; LEÓN, B.; TIMÁNA, M.; ZIMMER, H. Non-woody life-form contribution to vascular plant species richness in a tropical American forest. **Plant Ecology**, v. 201, p. 87-99, 2009.

MANTOVANI, M.; RUSCHEL, A.R.; REIS, M.S.; PUCHALSKI, A.; NODARI, R.O. Fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em uma formação secundária da Floresta Atlântica. **Revista Árvore**, v. 27, n. 4, p. 451-458, 2003.

MARTINELLI, G.; VIEIRA, C.M.; GONZALEZ, M.; LEITMAN, P.; PIRATININGA, A.; COSTA, A.F.; FORZZA, R.C. Bromeliaceae da Mata Atlântica Brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. **Rodriguésia,** v. 59, n. 1, p. 209-258, 2008.

MEZ, C. Bromeliaceae. In: Martius,C.F.P. **Flora Brasiliensis**, v. 3, n. 3, p. 173-634, 1891-1894.

MOTA, S.S.; FARO, I.A.M.; CAVALCANTE, B.P.C.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Reproductive systems and hybridization of *Lymania* species (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil threatened with extinction. **Scientia Horticulturae**, v. 322, e. 112447, 2023.

MOTA, S.S.; FARO, I.A.M.; SOARES, T.L.; ALMEIDA, P.S.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; ROSSI, M.L.; SOUZA, E.H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 338, e. 112890, 2024.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity *hostpots* for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NASCIMENTO, G.Q.S.S.; SILVA, T.A.; ALMEIDA, P.S.; ROSSI, M.L.; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Pollen and stigma morphology, pollen

viability and stigma receptivity of *Wittmackia species* (Bromeliaceae) by light, fluorescence and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 88, n. 5, p. 1451-1477, 2025.

NASCIMENTO, M.R.P.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H.; MOTA, S.S.; FARO, I.A.M.; CARVALHO, C.A.L. Reproductive biology of *Spondias bahiensis* P.Carvalho, Van den Berg & M.Machado (Anacardiaceae) in Recôncavo da Bahia. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 48, e.014224, 2024.

PITTENDRIGH, C.S. The bromeliads anopheles malaria complex in Trinidad. **Evolution**, v. 2, p. 58-89, 1948.

PYKE, G.H. Plant-pollinator co-evolution: It's time to reconnect with optimal foraging theory and evolutionarily stable strategies. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics,** v. 19, p. 70-76, 2016.

RAUH, W. Bromelien – Tillandsien und andere kulturwürdige Bromelien. 3. ed. Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag, 1990. 479 p.

REVANASIDDA, A.; BELAVADI, V.V. Floral biology and pollination in *Cucumis melo* L., a tropical andromonoecious cucurbit. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 22, n. 1, p. 215-225, 2019.

REZENDE, C.L.; SCARANO, F.R.; ASSAD, E.D.; JOLY, C.A.; METZGER, J.P.; STRASSBURG, B.B.N.; TABARELLI, M.; FONSECA, G.A.B.; MITTERMEIER, R.A. From hotspot to hopespot: an opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 16, n. 4, p. 208-214, 2018.

RINCÓN-RABANALES, M.; VARGAS-LÓPEZ, L.I.; ADRIANO-ANAYAL, VÁZQUEZ-OVANDO, A, SALVADOR-FIGUEROA, M.; OVANDO-MEDINA I. Reproductive biology of the biofuel plant *Jatropha curcas* in its center of origin. **PeerJ**, v. 4, e. 1819, p. 1-12, 2016.

ROMERO, G.Q.; NOMURA, F.; GONÇALVES, A.Z.; DIAS, N.Y.N.; MERCIER, H.; CONFORTO, E.C.; ROSSA-FERES, D.C. Nitrogen fluxes from teefrogs to tank epiphytic bromeliads: an isotopic and physiological approach. **Oecologia**, v. 162, p. 941 949, 2010.

SCHMID, S.; SCHMID, V.S.; ZILLIKENS, A.; HARTER-MARQUES, B.; STEINER, J. Bimodal pollination system of the bromeliad *Aechmea nudicaulis* involving hummingbirds and bees: Pollination and floral biology of Aechmea nudicaulis. **Plant biology**, v. 13, n. 1, p. 41-50, 2011.

SCHULTE, K.; BARFUSS, M.H.J.; ZIZKA, G. Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. **Molecular Phylogenetics and Evolution,** v. 51, p. 327-339, 2009.

SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y.; SIQUEIRA, A.C.M.F.; ZANATTO, A.C.E. Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze: Implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, v. 58, p. 25-40, 2000.

SHARMA, A.K.; SHARMA, A. **Chromosome techniques**, Switzerland: Harwood Academic Publishers, 1994. 367 p.

SHIVANNA, K.R.; RANGASWAMY, N.S. **Pollen biology**. A laboratory manual. Berlin/New York: Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 1992. 119 p.

SILVA, T.A.; NASCIMENTO, G.Q.S.S.; ALMEIDA, P.S.; CAVALCANTE, B.P.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Pollen morphology, viability, and stigma receptivity of *Hohenbergia* (Bromeliaceae) species occurring in the Atlantic forest biome with potential for landscaping and cut flowers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 72, n. 2, p. 2007-2029, 2024.

SILVA, R.L.; SOUZA, E.H.; VIEIRA, L. J.; PELACANI, C.R.; SOUZA, F.V.D. Cryopreservation of pollen of wild pineapple accessions. **Scientia Horticulturae**, v. 219, p. 326-334, 2017.

SILVA, T.A.; FAGUNDES, A.C.A.; NASCIMENTO, G.Q.S.S; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Seasonal phenology and pollinator similarity of two species of *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromelioideae: Bromeliaceae) in distinct Atlantic Forest fragments. **The Science of Nature**, v. 112, n.38, 2025a.

SILVA, T.A.; NASCIMENTO, G.Q.S.S.; ALMEIDA, P.S.; CAVALCANTE, B.P.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Pollen morphology, viability, and stigma receptivity of *Hohenbergia* (Bromeliaceae) species occurring in the Atlantic Forest biome with potential for landscaping and cut flowers. **Genetic Resources and Crop Evolution,** v. 72, p. 2007-2029, 2025b.

SIQUEIRA FILHO, J.A.; MACHADO, I.C.S. Biologia reprodutiva de *Canistrum aurantiacum* E. Morren (Bromeliaceae) em remanescente da Floresta Atlântica, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, p. 427-444, 2001.

SMITH, L.B.; DOWNS, J. (Eds.). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, v. 14, p. 1-660. New York: Hafner Press, 1974.

SOS Mata Atlântica. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica**: período 2019/2020, relatório técnico. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2021. 73 p.

SOS Mata Atlântica. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica**: período 2022-2023. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2025. Disponível em: https://sosma.org.br/iniciativas/atlas-da-mata-atlantica. Acesso em: 2 jun. 2025.

SOUZA, E.H.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; MARTINELLI, A.P. Stigma structure and receptivity in Bromeliaceae. **Scientia Horticulturae**, v. 203, p. 118-125, 2016.

SOUZA, E.H.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; LEDO, C.A.S.; MARTINELLI, A.P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic Forest. **Euphytica**, v. 204, p. 13–28, 2015.

SOUZA, E.H.; VERSIEUX, L.M.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; COSTA, M.A.P.C.; MARTINELLI, A.P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. **Scientia Horticulturae,** v. 223, n. 1, p. 53-61, 2017.

SOUZA, F.V.D.; SOUZA, E.H.; SENA NETO, A.R.; MARCONCINI, J.M.; ASSIS, S.A.; CUNHA, G.A.P. Production for Other Uses. In: SANEWSKI, G.M.; BARTHOLOMEW, D.; PAULL, R.E. (Org.). **The pineapple**: botany, production and uses. 2ed. Abingdon: CABI International, 2018, pp. 222-232.

SOUZA, S.O.; OLIVEIRA, R.S.O.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; ROSSI, M.L.; SOUZA, E.H. Morphoanatomy and stigma receptivity in *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) occurring in Bahia, Brazil. **Nordic Journal of Botany,** v. 38, n. 9, p. 1-12, 2020.

STONE, J.L.; THOMSON, J.D.; DENT-ACOSTA, S.J. Assessment of pollen viability in hand-pollination experiments: a review. **American Journal of Botany**, v. 82, p. 1186-1197, 1995.

TARDIVO, R.C.; CERVI, A.C. O gênero *Canistrum* E. Morren (Bromeliaceae) no Estado do Paraná. **Acta Botanica Brasilica**, v. 11, n. 2, p. 259-271, 1997.

VARGAS, D.P.; SOUZA, S.A.M.; ANJOS, S.D.; BOBROWSKI, V.L. Análise dos grãos de pólen de diferentes cultivares de manona (*Ricinus communis* l., euphorbiaceae): conservação e viabilidade. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 1, p. 115-120, 2009.

WENDT, T.; COSER, T.S.; MATALLANA, G.; GUILHERME, F.A.G.An apparent lack of prezygotic reproductive isolation among 42 sympatric species of Bromeliaceae in southeastern Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, v. 275, n. 1–2, p. 31-41, 2008.

ZIZKA, A.; AZEVEDO, J.; LEME, E.; NEVES, B.; COSTA, A.F.; CÁCERES, D.; ZIZKA, G. Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). **Diversity and Distributions**, v. 26, p. 183–195, 2019.

CAPÍTULO 1

MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA EM *Canistrum* (BROMELIOIDEAE: BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA*

* Capítulo a ser ajustado e submetido ao periódico “Microscopy Research and Technique”.

MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA EM *Canistrum* (BROMELIOIDEAE: BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA

RESUMO: O gênero *Canistrum* (Bromelioideae) compreende 13 espécies endêmicas da Mata Atlântica, distribuídas principalmente nos estados de Pernambuco, Alagoas, Bahia e Espírito Santo, e subdivididas em dois subgêneros (*Canistrum* e *Cucullatanthus*). Apesar de sua relevância ecológica e ornamental, pouco se conhece sobre sua biologia reprodutiva. Este estudo teve como objetivo caracterizar a morfologia das estruturas reprodutivas (grãos de pólen e estigma), avaliar a viabilidade polínica e a receptividade estigmática de 13 espécies do gênero *Canistrum* e discutir o valor desses caracteres para a taxonomia e a compreensão da biologia reprodutiva do gênero. As análises foram conduzidas com microscopia de luz e eletrônica de varredura, utilizando o método de acetólise lática fraca para descrição detalhada da exina. A viabilidade polínica foi avaliada por testes histoquímicos (Alexander e FDA) em três estádios florais (pré-antese, antese e pós-antese), enquanto a germinação *in vitro* foi testada em meios SM e BM. A receptividade estigmática foi verificada por ensaios enzimáticos (peróxido de hidrogênio e α-naftil-acetato + fast blue B salt). Os grãos de pólen apresentaram-se como mônades, com variação em forma (oblata, suboblata e oblato-esferoidal), polaridade (apolar e sub-isopolar), âmbito (circular e elíptico) e ornamentação da exina, sempre semitectada e reticulado-heterobrocada, mas com diferenças no lúmen quanto à presença de grânulos. Os estigmas foram do tipo conduplicado-espiral, com três lóbulos, papilas marginais variáveis e coloração predominantemente branca, mas também amarela e lilás. A viabilidade polínica foi elevada em todas as espécies, especialmente durante a antese, coincidindo com os resultados da germinação *in vitro*, que apresentaram melhor desempenho no meio SM para a maioria das espécies, embora o BM também tenha sido eficaz em alguns casos. A receptividade estigmática foi mais intensa na antese e manteve-se elevada na pós-antese, evidenciando sincronia entre os grãos de pólen e estigma, sugerindo ausência de dicogamia. Esses resultados revelam a diversidade morfológica e funcional dos grãos de pólen e estigmas em *Canistrum* e fornecem subsídios relevantes para estudos de taxonomia, conservação e para a compreensão da biologia reprodutiva de espécies endêmicas e ameaçadas da Mata Atlântica.

PALAVRAS-CHAVE: Bromélia, Biologia Floral, Endemismo, Palinologia, Pólen, Reprodução.

MORPHOLOGY, POLLEN VIABILITY, AND STIGMA RECEPTIVITY IN *Canistrum* (BROMELIOIDEAE: BROMELIACEAE) ENDEMIC TO BRAZIL AND OCCURRING IN THE ATLANTIC FOREST

ABSTRACT: The genus *Canistrum* (Bromelioideae) comprises 13 species endemics to the Atlantic Forest, distributed mainly in the states of Pernambuco, Alagoas, Bahia, and Espírito Santo, and subdivided into two subgenera (*Canistrum* and *Cucullatanthus*). Despite its ecological and ornamental importance, little is known about its reproductive biology. This study aimed to characterize the morphology of reproductive structures (pollen grains and stigma), assess pollen viability and stigma receptivity in 13 species of the genus *Canistrum*, and discuss the value of these characters for taxonomy and the understanding of the genus' reproductive biology. Analyses were carried out using light and scanning electron microscopy, applying the weak lactic acetolysis method for detailed description of the exine. Pollen viability was assessed by histochemical tests (Alexander and FDA) in three floral stages (pre-anthesis, anthesis, and post-anthesis), while *in vitro* germination was tested in SM and BM media. Stigma receptivity was evaluated through enzymatic assays (hydrogen peroxide and α-naphthyl acetate + fast blue B salt). Pollen grains were monads, with variation in shape (oblate, suboblate, and oblate-spheroidal), polarity (apolar and sub-isopolar), amb (circular and elliptical), and exine ornamentation, always semitectate and reticulate-heterobrocate, but differing in lumen according to the presence of bacula. Stigmas were of the conduplicate-spiral type, with three lobes, variable marginal papillae, and predominantly white coloration, but also yellow and lilac. Pollen viability was high in all species, particularly during anthesis, coinciding with the *in vitro* germination results, which showed better performance in SM medium for most species, although BM was also effective in some cases. Stigma receptivity was more intense at anthesis and remained high in post-anthesis, evidencing synchrony between pollen and stigma and suggesting the absence of dichogamy. These results reveal the morphological and functional diversity of pollen grains and stigmas in *Canistrum* and provide relevant insights for studies on taxonomy, conservation, and the understanding of the reproductive biology of endemic and threatened Atlantic Forest species.

KEYWORDS: Bromeliad, Floral Biology, Endemism, Palynology, Pollen, Reproduction.

INTRODUÇÃO

O gênero *Canistrum* E. Morren, pertencente à subfamília Bromelioideae da família Bromeliaceae, é composto por espécies endêmicas da Mata Atlântica do Brasil e encontra-se subdividido em dois subgêneros: *Canistrum* e *Cucullatanthus* (Gouda et al., 2025, atualização contínua). Descrito por Édouard Morren em 1873, a partir da espécie-tipo *Canistrum aurantiacum* E. Morren coletada em Pernambuco, o nome do gênero deriva do grego *kanistron*, que significa "cesto", aludindo ao formato das inflorescências densamente floridas (Leme, 1997). Segundo Tardivo e Cervi (1997), *Canistrum* destaca-se por apresentar algumas das inflorescências mais floríferas da família, podendo reunir entre 90 a 500 flores por inflorescência.

Atualmente, o gênero é composto por 13 espécies, todas endêmicas do Brasil, com distribuição especialmente nos estados de Pernambuco, Alagoas, Bahia e Espírito Santo (Martinelli et al., 2008; Maciel, 2025, atualização contínua). Trata-se, portanto, de um dos doze gêneros de Bromeliaceae considerados endêmicos da Mata Atlântica brasileira (Martinelli et al., 2008; Forzza et al., 2025, atualização contínua), reforçando seu valor para a conservação da biodiversidade regional.

A Mata Atlântica é um dos domínios fitogeográficos mais ricos em biodiversidade do planeta, mas também um dos mais ameaçados (Myers et al., 2000; Miyaki et al., 2022). Originalmente ocupando uma extensa faixa litorânea do Brasil, esse domínio foi drasticamente reduzido e fragmentado devido a atividades humanas como desmatamento, expansão urbana e agrícola, exploração madeireira e poluição (Branco et al., 2021). Atualmente, resta menos de 12% da cobertura original, comprometendo severamente a conservação da flora endêmica, incluindo espécies de *Canistrum*, muitas das quais com populações pequenas e isoladas (Reis et al., 2023).

A degradação ambiental e a pressão antrópica sobre os habitats naturais tornam urgentes os estudos voltados à biologia reprodutiva das espécies da Mata Atlântica (Ferreira et al., 2024). No caso das espécies de Bromeliaceae, sua morfologia foliar e disposição em roseta conferem adaptações únicas, como a formação de cisternas pelas bainhas foliares sobrepostas, permitindo a retenção de água, matéria orgânica e nutrientes (Dias et al., 2014). Essas estruturas não apenas garantem a sobrevivência da planta em ambientes tropicais, como também criam microhabitats essenciais para diversos organismos (Leroy et al., 2009).

Estudos sobre biologia floral e reprodutiva são fundamentais para subsidiar estratégias de conservação *in situ* e *ex situ*, bem como programas de manejo e cultivo

sustentável (Souza et al., 2017; Mota et al., 2023; 2024; Fagundes et al., 2024; Silva et al., 2024; Nascimento et al., 2025b). O conhecimento detalhado dos mecanismos reprodutivos, como a morfologia das flores, a viabilidade dos grãos de pólen e a receptividade estigmática, é imprescindível para orientar ações de melhoramento genético e conservação de recursos vegetais (Souza et al., 2017; Mota et al., 2023; Fagundes et al., 2024; Silva et al., 2024; Nascimento et al., 2025b). Além disso, tais informações permitem avaliar a fertilidade das espécies e identificar possíveis limitações reprodutivas, como autoincompatibilidade, baixa viabilidade polínica ou barreiras pré-zigóticas (Souza et al., 2017; Mota et al., 2023; Fagundes et al., 2024; Silva et al., 2024; Nascimento et al., 2025b).

A conservação de grãos de pólen é uma ferramenta estratégica para programas de melhoramento genético e conservação de espécies, especialmente aquelas com floração assincrônica ou em risco de extinção (Souza et al., 2015; 2018; Silva et al., 2017). Técnicas como a criopreservação têm sido utilizadas com sucesso em diversas espécies para manter a viabilidade polínica por períodos prolongados, facilitando cruzamentos controlados e a conservação de germoplasma (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017). Por exemplo, estudos com grãos de pólen de *Aechmea bicolor* (L.B.Sm.) Aguirre-Santoro demonstraram alta viabilidade mesmo após armazenamento por até 360 dias, evidenciando o potencial dessas técnicas para espécies tropicais (Souza et al., 2015).

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a morfologia das estruturas reprodutivas (grãos de pólen e estigma), avaliar a viabilidade polínica e a receptividade estigmática em 13 espécies do gênero *Canistrum*. A partir dessas análises, buscou-se compreender os mecanismos reprodutivos e o valor taxonômico desses caracteres, bem como gerar informações fundamentais sobre a biologia floral e a morfoanatomia do gênero, contribuindo para o avanço do conhecimento científico e para o desenvolvimento de estratégias eficazes de conservação e manejo dessas espécies endêmicas da Mata Atlântica e do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Foram estudadas 13 espécies do gênero *Canistrum*, todas endêmicas do Brasil: *Canistrum alagoanum* Leme & J.A.Siqueira, *C. aurantiacum* É.Morren, *C. auratum* Leme, *C. camacaense* Martinelli & Leme, *C. fosterianum* L.B.Sm., *C. guzmanioides* Leme, *C. improcerum* Leme & J.A.Siqueira, *C. lanigerum* H.Luther & Leme, *C. montanum* Leme, *C. pickelii* (A.Lima & L.B.Sm.) Leme & J.A.Siqueira, *C. sandrae* Leme, *C. seidelianum* W.Weber e *C. triangulare* L.B.Sm. & Reitz (Tabela 1).

Tabela 1. Espécies de *Canistrum* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes da Mata Atlântica, incluíndo município de coleta, voucher do Herbário depositado e status de conservação.

Espécie	Subgênero	Status de Ameaça[1]	Município de Coleta	Voucher
C. alagoanum Leme & J.A.Siqueira	*Cucullatanthus*	Em Perigo	Murici (AL)	HURB 25943
C. aurantiacum E.Morren	*Canistrum*	Em Perigo	Murici (AL)	HURB 23668
			Bonito (PE)	HURB 25948
C. auratum Leme	*Cucullatanthus*	Não Avaliada	Apuarema (BA)	HURB 5823
C. camacaense Martinelli & Leme	*Canistrum*	Em Perigo	Jussari (BA)	HURB 26112
			Camacã (BA)	HURB 23990
C. fosterianum L.B.Sm.	*Cucullatanthus*	Criticamente em Perigo	Guaibim (BA)	HB 77895
C. guzmanioides Leme	*Canistrum*	Em Perigo	Wenceslau Guimarães (BA)	HURB 4565
C. improcerum Leme & J.A.Siqueira	*Cucullatanthus*	Não Avaliada	São Luís do Quintunde (AL)	UFP 43914
C. lanigerum H.Luther & Leme	*Canistrum*	Não Avaliada	Camacã (BA)	HURB 25924
C. montanum Leme	*Cucullatanthus*	Em Perigo	Uruçuca (BA)	HURB 27858
C. pickelli (A.Lima & L.B.Sm.) Leme & J.A.Siqueira	*Cucullatanthus*	Vulnerável	Água Preta (PE)	UFP 51395
C. sandrae Leme	*Canistrum*	Não Avaliada	Jaguaripe (BA)	HB 89576
C. seidelianum W.Weber	*Cucullatanthus*	Não Avaliada	Porto Seguro (BA)	HURB 28734
			Itapebi (BA)	HURB 27177
C. triangulare L.B.Sm. & Reitz	*Cucullatanthus*	Em Perigo	Castelo (ES)	HB 6893

1. Forzza et al. (2025), Brasil (2022), Forzza et al. (2025, atualização contínua).

As coletas foram realizadas em populações naturais da Mata Atlântica e os exemplares (vouchers) foram incorporados ao acervo do Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB). Amostras vivas das mesmas espécies foram introduzidas em cultivo no

Banco de Germoplasma de Bromélias (BGB Bromélias), vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura e da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), localizado em Cruz das Almas, Bahia.

Todas as coletas foram realizadas em conformidade com a autorização SISBIO nº 69870-1 e as atividades estão devidamente registradas no SISGEN sob a autorização A9E9F8D, atendendo à legislação brasileira vigente para espécies nativas.

Morfologia e morfometria dos grãos de pólen e estigma

Para a caracterização morfológica dos grãos de pólen, as anteras foram coletadas em pré-antese e fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965), composta por glutaraldeído a 1%, paraformaldeído a 4%, cloreto de cálcio ($CaCl_2$) 0,1 M, em tampão cacodilato de sódio 0,2 M, com pH ajustado para 7,2. Após 48 horas de fixação, as amostras foram desidratadas em série crescente de etanol (35% a 100%), permanecendo por 20 minutos em cada concentração.

Em seguida, os materiais foram secos ao ponto crítico com dióxido de carbono líquido (Leica EM CPD 300, Balzers, Alemanha). Os grãos de pólen foram montados em suportes metálicos e submetidos à metalização com ouro por 180 segundos (Leica EM ACE 600, Balzers, Alemanha). As imagens digitais foram obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando o equipamento JEOL JSM-IT300 LV (Tokyo, Japão), no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária – NAP/MEPA, da ESALQ/USP, operando a 20 kV.

A caracterização morfológica dos grãos de pólen seguiu a terminologia proposta por Punt et al. (2007) e Halbritter et al. (2018). A descrição morfológica dos estigmas foi realizada com base nos critérios estabelecidos por Brown e Gilmartin (1984, 1989) e Barffus et al. (2016).

Para a análise morfométrica, os grãos de pólen frescos foram submetidos à técnica de Acetólise Lática Fraca (ACLAC 40), conforme Raynal e Raynal (1979), e analisados em microscópio óptico Olympus BX51 (Olympus, Tóquio, Japão), equipado com câmera digital Olympus DP175. As medidas foram obtidas por meio do software ImageJ 1.53s (Rasband, 1997-2018), incluindo o diâmetro polar e equatorial (em vista equatorial), o diâmetro equatorial maior e menor (em vista polar), e a espessura da exina, considerando 25 grãos de pólen por espécie.

A forma dos grãos foi determinada pela razão entre os diâmetros polar (P) e equatorial (E), segundo a fórmula P/E (Erdtman, 1952), assumindo a polaridade de acordo com Wanderley e Melhem (1991). Foram calculadas a média aritmética e o desvio padrão para cada variável. Para a morfometria do estigma e estilete, foram mensuradas três flores de diferentes indivíduos por espécie, também utilizando o software ImageJ 1.53s. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

Quantificação dos grãos de pólen

A estimativa do número de grãos de pólen por flor foi realizada utilizando uma câmara de Neubauer. Para isso, anteras em estádio de pré-antese foram coletadas de três flores provenientes de indivíduos distintos e depositadas individualmente em tubos de Eppendorf® de 2 mL, contendo 1 mL de ácido lático. As anteras foram então maceradas e a suspensão resultante foi homogeneizada com o auxílio de um agitador tipo vórtex.

Com o uso de uma micropipeta, a suspensão foi cuidadosamente transferida para a canaleta da câmara de Neubauer. A contagem dos grãos de pólen foi realizada sob microscópio óptico Olympus BX51 (Olympus, Tóquio, Japão), acoplado a uma câmera digital Olympus DP175. Para cada amostra, foram realizados múltiplos campos de contagem, totalizando 45 unidades contadas por amostra, com o objetivo de estimar a média do número de grãos de pólen por flor.

Germinação *in vitro* de grão de pólen

Para o teste de germinação *in vitro* dos grãos de pólen, foram coletadas flores do mesmo indivíduo e retiradas três anteras por amostra. As anteras foram cuidadosamente transferidas com auxílio de um pincel para placas de Petri contendo dois tipos de meio de cultura: o meio BK, descrito por Brewbaker e Kwack (1963), e o meio BM, proposto por Parton et al. (2002).

O meio BK foi preparado com sacarose a 10%, ágar a 0,8%, ácido bórico (H_3BO_3) 0,01%, nitrato de cálcio tetrahidratado [$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$] 0,03%, sulfato de magnésio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0,02% e nitrato de potássio (KNO_3) 0,01%. O meio BM foi composto por sacarose a 20%, ágar a 0,8% e H_3BO_3 a 0,01%.

As placas foram mantidas em câmara climatizada por 24 horas. Após esse período, os grãos de pólen foram observados e fotografados em estereomicroscópio Leica EZ4 W (Leica Microsystems, Alemanha), equipado com câmera digital acoplada. Para melhor visualização, cinco gotas de azul de toluidina a 0,01% foram adicionadas às placas.

A taxa de germinação foi determinada por meio da contagem total dos grãos de pólen e da identificação daqueles que apresentaram tubo polínico com comprimento igual ou superior ao diâmetro do grão, critério este amplamente utilizado em testes de viabilidade (Shivanna e Johti, 1985). Para mensuração do comprimento dos tubos polínicos, foram selecionados aleatoriamente cinco tubos por quadrante da placa, totalizando 60 tubos por tratamento. As medidas foram realizadas com o software ImageJ, versão 1.53s (Rasband, 1997–2018).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 3 × 13 (meio de cultura × estádio de desenvolvimento floral × espécie), com 12 repetições por tratamento. A análise estatística foi realizada no software R (R CORE TEAM, 2023), e as médias foram comparadas conforme apropriado com testes de Tukey ($p < 0,01$) e Scott-Knott ($p < 0,05$).

Testes histoquímicos dos grãos de pólen

A viabilidade dos grãos de pólen foi estimada utilizando dois testes histoquímicos: a coloração com solução de Alexander (Alexander, 1969; 1980) e o teste com diacetato de fluoresceína – FDA (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1970). Para a metodologia com Alexander, anteras de flores em três estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese) foram coletadas, sendo três anteras por estádio. Cada amostra foi montada em lâminas de vidro contendo três gotas da solução corante, e coberta com lamínula. A coloração dos grãos de pólen foi avaliada em microscópio óptico.

A visualização foi feita em um microscópio óptico Olympus BX51 (Olympus, Tóquio, Japão), equipado com uma câmera digital Olympus DP175, utilizando o método de varredura da lâmina para garantir uma amostragem aleatória dos grãos corados. Foram contabilizados 100 grãos de pólen por lâmina, totalizando 300 grãos por método.

Os grãos de pólen corados em rosa ou roxo intenso foram considerados viáveis, enquanto os esverdeados ou incolores foram considerados inviáveis (Alexander, 1969).

No teste com diacetato de fluoresceína (FDA), anteras dos mesmos três estádios florais foram distribuídas em lâminas com uma gota da solução de FDA, cobertas com

lamínula e imediatamente observadas em microscópio de fluorescência com filtro UV. O FDA é hidrolisado por enzimas esterases presentes em grãos viáveis, promovendo fluorescência verde ou amarelo-esverdeada brilhante (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1970).

A porcentagem de viabilidade foi calculada com base na razão entre grãos corados (viáveis) e o total contado por lâmina. Os dados de viabilidade foram transformados pela função arco seno da raiz quadrada (arcsin $\sqrt{x}/100$) para atender à normalidade antes da análise estatística.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 3 × 13 (dois testes histoquímicos × três estádios florais × treze espécies), com três repetições. A análise de variância foi conduzida no software R (R CORE TEAM, 2023). As médias dos estádios florais foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,01$), os testes histoquímicos foram avaliados pelo teste F ($p < 0,01$), e as médias entre espécies foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Receptividade do estigma

Para avaliar a receptividade estigmática, foram realizados dois testes distintos: o teste com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 3% e o teste com solução de α-naftil-acetato associada ao sal Fast Blue B (Zeisler, 1933; Pearse, 1972; Dafni, 1992). No primeiro teste, os estigmas de três flores por espécie foram cuidadosamente removidos e imersos em solução de peróxido de hidrogênio (3%) por um período de três minutos. A formação de bolhas na superfície do estigma foi utilizada como indicativo da atividade enzimática da peroxidase, associada à receptividade (Dafni e Maués, 1998).

Para o segundo método, a solução corante foi previamente filtrada após a preparação. Em seguida, os estigmas foram imersos na solução de α-naftil-acetato com Fast Blue B por um intervalo de 2 a 5 minutos. Após esse período, foram lavados em água destilada para remoção do excesso de reagente. A receptividade foi indicada pelo aparecimento de coloração roxa intensa ou preta na região estigmática, resultado da atividade da enzima esterase, comumente associada à fase receptiva do estigma (Dafni e Maués, 1998).

A intensidade da reação em ambas as metodologias foi registrada com base em uma escala adaptada de Dafni e Maués (1998), sendo: (–) sem reação; (+) resposta positiva fraca; (++) resposta positiva forte; (+++) resposta positiva muito forte. Essa abordagem permitiu a identificação de variações interespecíficas na receptividade

estigmática, fornecendo subsídios para a compreensão dos mecanismos reprodutivos e potenciais aplicações em cruzamentos controlados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfometria dos grãos de pólen

O gênero *Canistrum* apresentou grãos de pólen mônades, com variabilidade morfopolínica entre as 13 espécies analisadas (Tabelas 2 e 3; Figuras 1 e 2). Foram observadas diferenças quanto à forma (oblata, suboblata e oblato-esferoidal), à polaridade (apolar nas espécies pantoporadas e sub-isopolar nas demais) e ao âmbito (elíptico e circular). Além dessas características, registraram-se variações na ornamentação da exina restritas ao lúmen, com presença de muitas, poucos ou ausência de grânulos. Em todas as espécies, a exina é semitectada e apresenta padrão reticulado-heterobrocado. A variação registrada concentrou-se no lúmen da exina, que pode conter grânulos, o que reflete diferenças funcionais na permeabilidade e na interação do grão com o estigma durante a germinação.

A ornamentação da exina, altamente conservada e geneticamente estável (Sarwar e Takahashi, 2012; Zhang et al., 2017), é amplamente utilizada para investigações sobre a origem e evolução das plantas, bem como para distinção taxonômica.

Tabela 2. Morfologia dos grãos de pólen de 13 espécies de *Canistrum* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes da Mata Atlântica.

Espécie	Forma[1]	Polaridade[1]	Amb[1]	Abertura[1]
C.alagoanum	-	Apolar	Circular	Pantoporado
C.aurantiacum	-	Apolar	Circular	Pantoporado
C.auratum	Oblato-esferoidal	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.camacaense	Oblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.fosterianum	Suboblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.guzmanioides	Oblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.improcerum	Oblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.lanigerum	Suboblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.montanum	Oblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.pickelli	Oblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.sandrae	Oblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.seidelianum	Oblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado
C.triangulare	Oblato	Sub-isopolar	Elíptico	Biporado

Espécie	Exina[1]	Ornamentação[1]	Lumem[1]
C.alagoanum	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Poucos grânulos
C.arantiacum	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Poucos grânulos
C.auratum	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Poucos grânulos
C.camacaense	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Muitos grânulos
C.fosterianum	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Poucos grânulos
C.guzmanioides	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Ausente
C.improcerum	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Muitos grânulos
C.lanigerum	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Ausente
C.montanum	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Poucos grânulos
C.pickelli	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Poucos grânulos
C.sandrae	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Ausente
C.seidelianum	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Poucos grânulos
C.triangulare	Semitectada	Reticulada-heterobrocada	Ausente

[1] De acordo Halbritter et al. (2018).

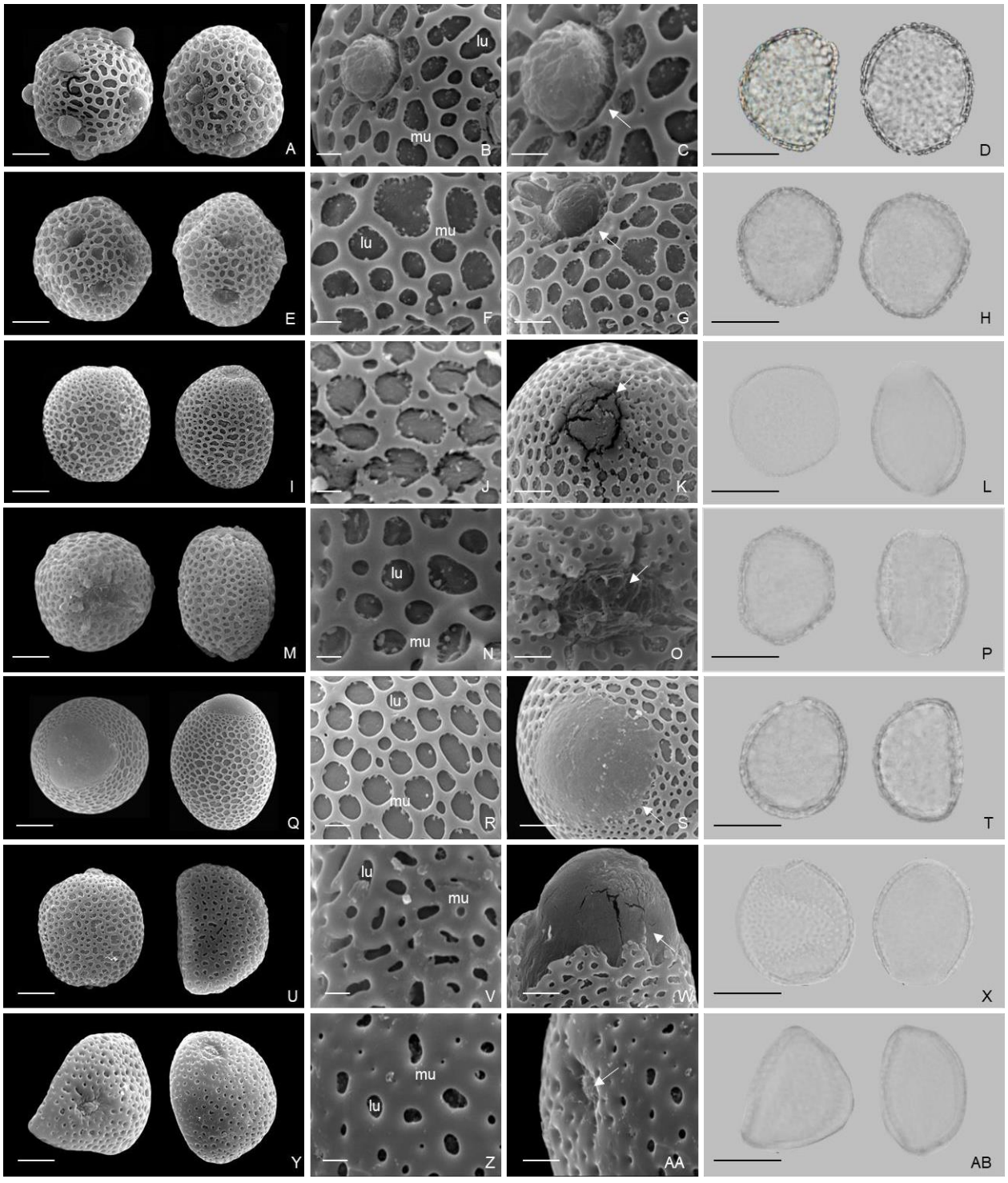


Figura 1. Morfologia dos grãos de pólen de *Canistrum* (Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A-D) *Canistrum alagoanum*. E-H) *Canistrum aurantiacum*. I-L) *Canistrum auratum*. M-P) *Canistrum camacaense*. Q-T) *Canistrum fosterianum*. U-X) *Canistrum guzmanioides.* Y-AB) *Canistrum improcerum.* A, E, I, M, Q, U, Y) Vista geral do grão de pólen obtido por microscopia eletrônica de varredura (MEV). B, F, J, N, R, V, Z) Detalhe da ornamentação da exina em MEV. C, G, K, O, S, W, AA)

Detalhe da abertura dos grãos de pólen em MEV. D, H, L, P, T, X, AB) Grãos de pólen após acetólise lática. Barras: A, E, I, M, Q, U, Y = 10 µm. B, F, J, N, R, V, Z = 2 µm. C, G, K, O, S, W, AA = 5 µm. D, H, L, P, T, X, AB = 50 µm.

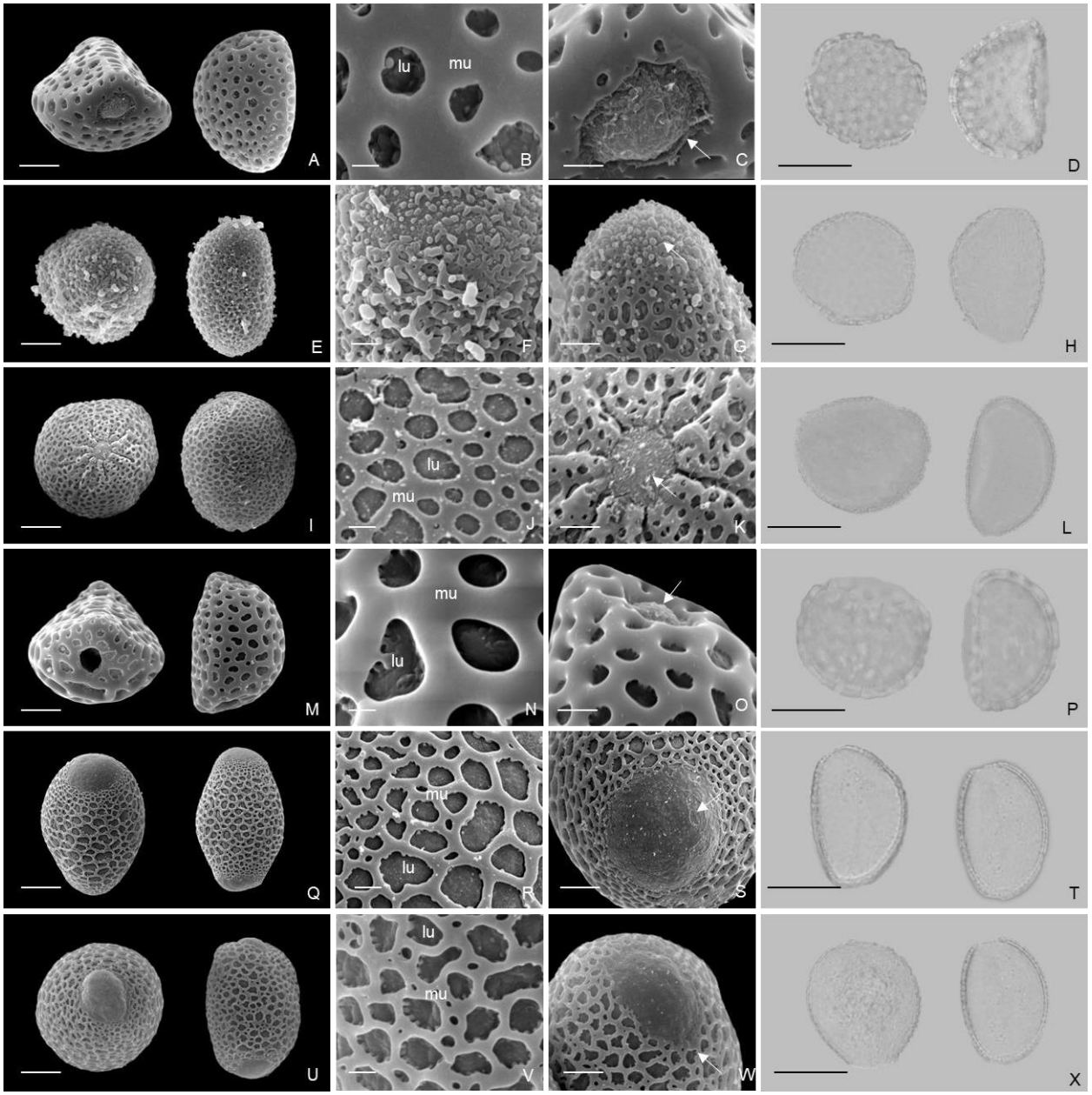


Figura 2. Morfologia dos grãos de pólen de *Canistrum* (Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A-D) *Canistrum lanigerum*. E-H) *Canistrum montanum*. I-L) *Canistrum pickelli.* M-P) *Canistrum sandrae*. Q-T) *Canistrum seidelianum*. U-X) *Canistrum triangulare.* A, E, I, M, Q, U) Vista geral do grão de pólen obtido por microscopia eletrônica de varredura (MEV). B, F, J, N, R, V) Detalhe da ornamentação da exina em MEV. C, G, K, O, S, W) Detalhe da abertura dos grãos de pólen em MEV. D, H, L, P, T, X) Grãos de pólen após a acetólise lática. Barras: A, E, I,

L, M, Q, U = 10 µm, B, F, J, N, R, V = 2 µm. C, G, K, O, S, W = 5 µm. D, H, L, P, T, X = 50 µm.

A caracterização polínica revelou que *Canistrum alagoanum* (Figura 1A-D) e *C. aurantiacum* (Figura 1E-H) são apolares e pantoporadas, com âmbito circular, enquanto todas as demais espécies analisadas apresentaram grãos sub-isopolares e biporados, com âmbito elíptico (Tabela 2). A distinção entre grãos pantoporados e biporados é consistente com a literatura palinológica, na qual o número e a disposição das aberturas são considerados caracteres estáveis e de grande valor taxonômico (Punt et al., 2007). Além disso, estudos demonstram que a quantidade e a posição das aberturas polínicas influenciam a regulação hídrica e a viabilidade dos grãos de pólen, impactando diretamente estratégias ecofisiológicas de cada espécie (Prieu et al., 2016).

As análises morfométricas (Tabela 3) indicaram que a maioria das espécies de *Canistrum* possui grãos de pólen de tamanho médio, considerando o diâmetro equatorial. Em *Canistrum aurantiacum*, o valor foi de 37,00 ± 2,05 µm, enquanto em *C. montanum* chegou a 50,36 ± 1,84 µm. Já os grãos os grãos de pólen grandes foram observados em *C. improcerum*, *C. lanigerum* e *C. sandrae*, variando de 55,56 ± 1,63 µm em *C. sandrae* até 63,45 ± 1,29 µm em *C. lanigerum*. Essa variação morfométrica reforça o potencial da morfologia polínica como caráter diagnóstico na delimitação de táxons e na reconstrução de relações filogenéticas (Hesse et al., 2009; Punt et al., 2007).

Tabela 3. Morfometria dos grãos de pólen de 13 espécies de *Canistrum* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica.

Espécie	Diâmetro 1	Diâmetro 2			
C. alagoanum	37,42 ± 1,02	44,40 ± 0,72			
C. aurantiacum	32,95 ± 1,83	37,00 ± 2,05			
Espécie	Vista equatorial[1]		Vista polar[1]		P/E[2]
	Diâmetro polar (P) (µm)	Diâmetro equatorial (E) (µm)	Diâmetro maior (µm)	Diâmetro menor (µm)	
C. auratum	40,11 ± 1,47	40,76± 1,79	44,95 ± 2,20	40,99 ± 1,59	0,98
C. camacaense	31,09 ± 1,34	45,91 ± 1,77	37,71 ± 0,62	35,49 ± 1,56	0,67
C. fosterianum	40,85 ± 0,42	52,63 ± 0,47	40,37 ± 0,30	39,87 ± 0,45	0,78
C. guzmanioides	29,88 ± 2,87	43,86 ± 2,52	34,69 ± 2,60	31,82 ± 1,66	0,68
C. improcerum	41,91 ± 1,18	59,82 ± 1,34	54,28 ± 1,12	41,93 ± 1,59	0,70
C. laningerum	40,54 ± 1,22	63,45 ± 1,29	58,27 ± 2,59	39,78 ± 2,21	0,79
C. montanum	34,47 ± 2,02	50,36 ± 1,84	37,10 ± 1,34	31,54 ± 0,82	0,68
C. pickellii	31,93 ± 1,45	44,85 ± 1,86	35,12 ± 1,20	29,69 ± 1,22	0,71
C. sandrae	34,48 ± 1,83	55,56 ± 1,95	50,51 ± 1,63	34,46 ± 2,13	0,62
C. seidelianum	26,25 ± 0,34	42,20 ± 2,72	38,54 ± 2,86	28,53 ± 2,01	0,62
C. triangulare	30,29 ± 1,24	41,90 ± 2,09	35,89 ± 0,76	27,71 ± 1,22	0,72
	Exina (µm)	Teto (µm)	Lumem (µm)	Número de grãos de pólen [3]	
C. alagoanum	2,57 ± 0,11	1,04 ± 0,08	2,77 ± 0,46	113,767 ± 15,403 b	
C. aurantiacum	2,29 ± 0,21	1,14 ± 0,20	2,59 ± 0,18	135,667 ± 5,132 a	
C. auratum	1,61 ± 0,36	0,66 ± 0,06	1,20 ± 0,06	100,733 ± 9,312 c	
C. camacaense	1,86 ± 0,05	0,84 ± 0,07	2,62 ± 0,67	120,625 ± 12,449 b	
C. fosterianum	2,28 ± 0,18	0,92 ± 0,11	2,52 ± 0,18	107,383 ± 8,590 b	
C. guzmanioides	1,54 ± 0,01	0,59 ± 0,03	1,60 ± 0,28	89,333 ± 0,882 c	
C. improcerum	2,79 ± 0,39	1,63 ± 0,14	1,60 ± 0,20	120,167 ± 9,751 b	
C. laningerum	3,28 ± 0,73	1,83 ± 0,10	2,91 ± 0,74	68,033 ± 3,950 d	
C. montanum	1,67 ± 0,06	0,72 ± 0,07	2,42 ± 0,49	88,407 ± 1,445 c	
C. pickelii	0,86 ± 0,06	0,48 ± 0,04	1,48 ± 0,24	137,542 ± 11,529 a	
C. sandrae	4,19 ± 0,31	1,94 ± 0,17	3,99 ± 0,20	126,258 ± 3,370 a	
C. seidelianum	2,59 ± 0,38	0,98 ± 0,14	2,55 ± 0,22	119,383 ± 8,405 b	
C. triangulare	2,11 ± 0,10	0,98 ± 0,09	3,11 ± 0,25	71,700 ± 3,297 d	

[1] Os grãos de pólen foram submetidos à ACLAC 40 conforme Raynal e Raynal (1979). Os resultados correspondem à média de 25 repetições ± desvio padrão; [2] De acordo com o método descrito por Punt et al. (2007) e Halbritter et al. (2018). [3] Conforme metodologia de Kearns e Inouye (1993).

As medidas obtidas pela acetólise lática revelaram variação expressiva na espessura da exina, no teto e no lúmen (Tabela 3). A menor espessura da exina foi observada em *C. pickelii* (0,86 ± 0,06 µm), e a maior em *C. sandrae* (4,19 ± 0,31 µm). Para o teto, os extremos também ocorreram em *C. pickelii* (0,48 ± 0,04 µm) e *C. sandrae*

(1,94 ± 0,17 µm). O lúmen variou de 1,48 ± 0,24 µm em *C. pickelii* até 3,99 ± 0,20 µm em *C. sandrae*. Esses resultados indicam que a variação na espessura da exina entre as espécies pode ter implicações funcionais importantes. Em *C. pickelii*, a exina mais delgada sugere menor barreira estrutural, enquanto em *C. sandrae*, a exina mais espessa pode favorecer maior proteção e modular a dinâmica de hidratação durante a germinação. Além disso, a espessura da exina é um parâmetro relevante quando se considera a conservação dos grãos de pólen, especialmente em protocolos de criopreservação, nos quais a integridade da parede polínica exerce papel crucial na manutenção da viabilidade (Souza et al., 2015).

Com o intuito de sistematizar as informações, a seguir são apresentadas as descrições dos grãos de pólen por espécie, destacando os principais resultados obtidos a partir das análises dos materiais amostrados.

Canistrum alagoanum: grãos de pólen dispersos em mônade, apolares, âmbito circular, pantoporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com poucos grânulos (Figura 1A-D).

Canistrum aurantiacum: grãos de pólen dispersos em mônade, apolares, âmbito circular, pantoporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com poucos grânulos (Figura 1E-H).

*Canistrum auratum***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato-esferoidal, subisopolares, tamanho médio, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com poucos grânulos (Figura 1I-L).

*Canistrum camacaense***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, subisopolares, tamanho médio, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com muitos grânulos (Figura 1M-P).

*Canistrum fosterianum***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato suboblato, subisopolares, tamanho grande, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com poucos grânulos (Figura 1Q-T).

*Canistrum guzmanioides***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, subisopolares, tamanho médio, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen ausente de grânulos (Figura 1U-X).

*Canistrum improcerum***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, subisopolares, tamanho grande, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com muitos grânulos (Figura 1Y-AB).

*Canistrum laningerum***:** Grãos de pólen dispersos em mônade, formato suboblato, subisopolares, tamanho grande, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen ausente de grânulos (Figura 2A-D).

*Canistrum montanum***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, subisopolares, tamanho médio, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com poucas grânulos (Figura 2E-H).

*Canistrum pickelii***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, subisopolares, tamanho médio, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com poucos grânulos(Figura 2I-L).

*Canistrum sandrae***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, subisopolares, tamanho grande, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen ausente de grânulos (Figura 2M-P).

*Canistrum seidelianum***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, subisopolares, tamanho médio, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen com poucos grânulos (Figura 2Q-T).

*Canistrum triangulare***:** grãos de pólen dispersos em mônade, formato oblato, subisopolares, tamanho médio, âmbito elíptico, biporados. Exina semitectada com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen ausente de grânulos (Figura 2U-X).

Em relação a quantificação dos grãos de pólen, (Tabela 3) os maiores valores encontrados foram em *C. pickelii* (137.542 ± 11.529) e *C. aurantiacum* (135.667 ± 5.132), enquanto os menores foram registrados em *C. lanigerum* (68.033 ± 3.950) e *C. triangulare* (71.700 ± 3.297). Essa diferença pode estar associada ao porte floral, à disponibilidade de recursos e às síndromes de polinização, sugerindo estratégias contrastantes dentro do gênero. De acordo com Harder e Johnson (2008), variações na produção polínica influenciam a eficiência da polinização cruzada e a diversificação genética, o que reforça a importância de se considerar não apenas os aspectos morfológicos, mas também quantitativos.

Do ponto de vista taxonômico, *Canistrum* é dividido em dois subgêneros: subgen. *Canistrum*, com espécies como *C. aurantiacum*, *C. camacaense*, *C. guzmanioides*, *C.*

improcerum, *C. lanigerum* e *C. sandrae*; e subgen. *Cucullatanthus*, que reúne *C. alagoanum*, *C. auratum*, *C. fosterianum*, *C. montanum*, *C. pickelii*, *C. seidelianum* e *C. triangulare* (Gouda et al., 2025, atualização contínua). Essa divisão foi estabelecida com base em caracteres florais e da inflorescência, mas os dados palinológicos contribuem com novos elementos para a discussão. A presença de espécies pantoporadas em ambos os subgêneros (*C. alagoanum* em *Cucullatanthus* e *C. aurantiacum* em *Canistrum*) sugere que o caráter não está rigidamente associado à delimitação infragenérica, o que pode refletir diferentes histórias evolutivas dentro do gênero.

Estudos filogenômicos recentes apontam que *Canistrum*, assim como outros gêneros relacionados (*Aechmea*, *Quesnelia*, *Neoregelia*), não constitui um grupo monofilético estrito, mas integra o chamado “complexo nidularioide” (Schulte et al., 2009; Bratzel et al., 2023). Essa instabilidade sistemática sugere que a atual circunscrição do gênero reúne linhagens com diferentes origens evolutivas. A afinidade das espécies pantoporadas com o clado *Portea/ Gravisia* (Heller et al., 2015) reforça a hipótese de polifilia e sugere que a abertura pantoporada pode ter surgido uma única vez nesse conjunto, constituindo uma possível sinapomorfia.

Do ponto de vista evolutivo, variações na ornamentação e espessura da exina, bem como no número de aberturas, podem estar relacionadas a adaptações ecofisiológicas distintas (Wang e Dobritsa, 2018). Espécies com exina mais espessa, como *C. sandrae*, podem ter maior resistência à dessecação e, portanto, vantagem em ambientes com variações sazonais (espécie ocorrente em mata de restinga), enquanto espécies com exina mais delgada, como *C. pickelii*, favorecem germinação mais rápida em ambientes úmidos (floresta ombrófila). O padrão pantoporado, por sua vez, pode aumentar a suscetibilidade à perda hídrica, mas também permitir maior flexibilidade germinativa, configurando estratégias contrastantes no gênero (Prieu et al., 2017).

Estudos morfológicos e ultraestruturais dos grãos de pólen, incluindo características das aberturas e da ornamentação da exina, são fundamentais para a sistemática, que abrange a taxonomia, além de fornecer subsídios relevantes para a ecologia e para a compreensão da evolução vegetal. A análise detalhada dessas estruturas pode revelar adaptações reprodutivas a diferentes ambientes, estratégias de dispersão e interações com polinizadores (Faegri e Vanderpull, 1979; Harley et al., 2000). Dessa forma, os dados palinológicos contribuem não apenas para descrições morfológicas, mas também para a elucidação da diversidade e da história evolutiva das

plantas, ao mesmo tempo em que oferecem suporte para uma necessária reavaliação taxonômica do gênero *Canistrum*.

Morfologia e morfometria do estigma e estilete

As análises realizadas revelaram que todas as espécies de *Canistrum* apresentaram estigmas do tipo conduplicado-espiral, com três lóbulos dispostos em espiral, formando superfícies estigmáticas distintas (Figura 3, Tabela 4). Observou-se variação no grau de retorcimento entre as espécies: *C. alagoanum*, *C. sandrae* e *C. auratum* apresentaram menor retorcimento dos lóbulos estigmáticos em comparação com as demais. Além disso, verificou-se que os lóbulos estigmáticos podem apresentar diferentes tipos de margens papilosas, variando entre crenuladas e tubulares, com diferenças na densidade e no comprimento das papilas marginais, o que pode refletir adaptações específicas no processo de recepção e adesão dos grãos de pólen (Souza et al., 2016).

Com relação à coloração do estigma, a predominância foi da cor branca. No entanto, algumas espécies apresentaram variações marcantes: *Canistrum aurantiacum* e *C. auratum* exibiram coloração amarela intensa; *Canistrum camacaense*, amarelo claro; e *C. laningerum*, coloração lilás. Essa variação cromática, embora sutil, pode estar associada a diferentes estratégias de atração de polinizadores ou a mecanismos de reforço de isolamento reprodutivo entre espécies.

Estudos clássicos têm demonstrado que a coloração floral exerce papel fundamental na atração de polinizadores e pode atuar como mecanismo de isolamento reprodutivo entre espécies simpátricas. De acordo com Trunschke et al. (2021), a diversidade de cores florais afeta diretamente o comportamento de forrageamento e a preferência dos polinizadores, sendo moldada pela seleção mediada por estes agentes. De forma semelhante, Byers et al. (2014) ressaltam que variações em características visuais, especialmente cor das flores, estão entre os principais fatores que promovem isolamento reprodutivo mediado por polinizadores em plantas. Embora esses trabalhos abordem a flor como um todo, é plausível considerar que a coloração do estigma, por integrar a morfologia floral visível, também contribua para a atração de polinizadores e para reforçar mecanismos de isolamento reprodutivo entre espécies de Bromeliaceae. Essa hipótese ganha relevância ao observarmos que em *Canistrum* a coloração estigmática varia entre branca, amarela e lilás, contrastando com as estruturas das pétalas e sépalas e potencialmente funcionando como sinal visual adicional durante a visita dos polinizadores.

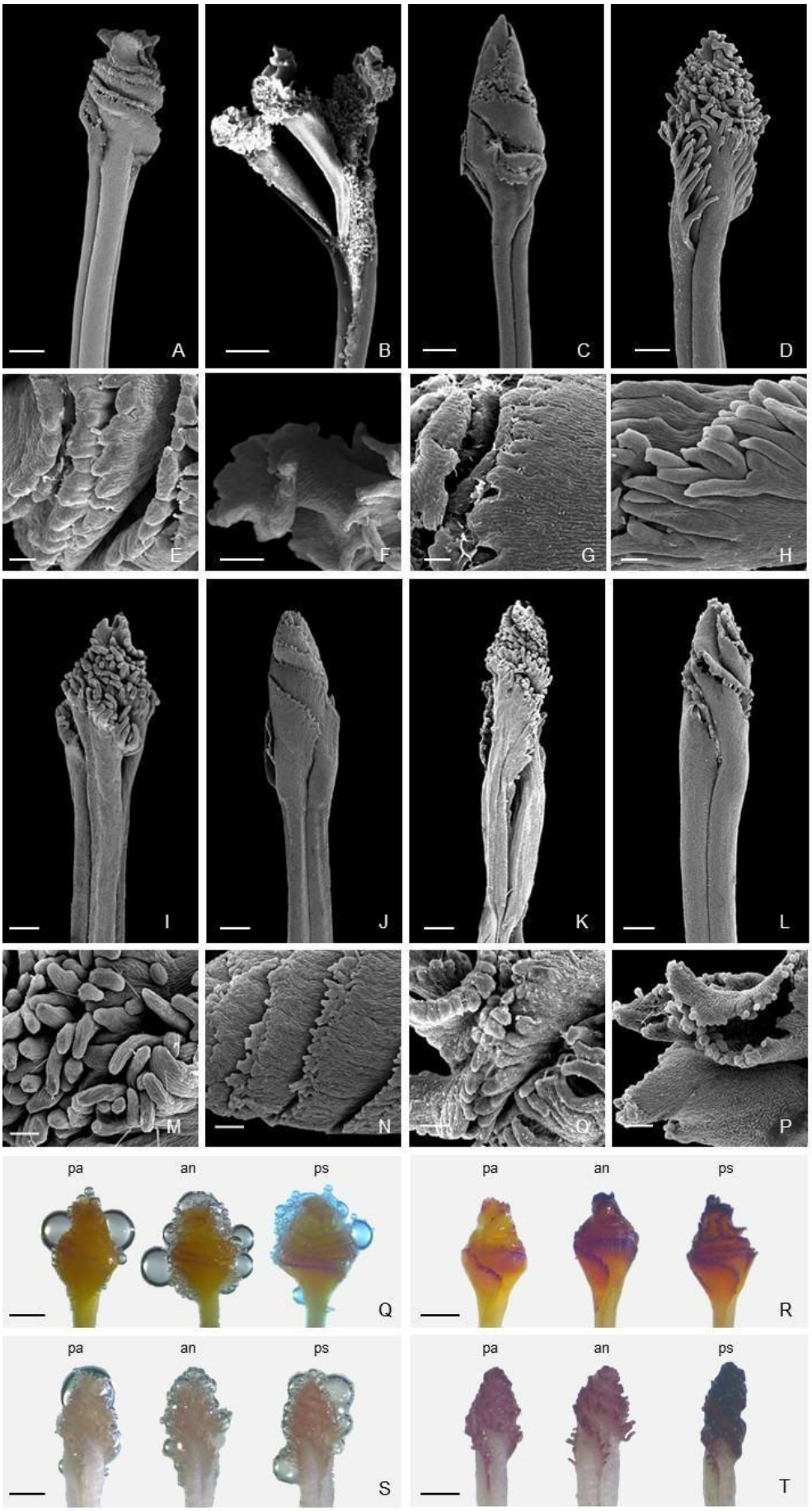

A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M
N
O
P
pa
an
ps
Q
pa
an
ps
R
pa
an
ps
S
pa
an
ps
T

Figura 3. Morfologia do estigma do tipo conduplicado-espiral com papillas crenuladas e tubulares no gênero *Canistrum* endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A, E) *Canistrum alagoanum;* B, F) *Canistrum aurantiacum;* C, G) *Canistrum auratum;* D,H) *C. camacaense;* I, M) *Canistrum improcerum;* J, N) *Canistrum laningerum*; K,N) *Canistrum pickelii*; L, P) *Canistrum triangulare;* Q-T) Receptividade do estigma com solução de α-naftil-acetato + fast blue B salt (R, T) e peróxido de hidrogênio (Q, S) durante os três estádios de desenvolvimento floral; Q) *Canistrum aurantiacum* evidenciando resposta positiva fraca (+) na pré antese e muito forte (+++) na antese e pós-antese com peróxido de hidrogênio durante os três estádios de desenvolvimento floral; R) *Canistrum aurantiacum* evidenciando resposta positiva fraca (+) na pré antese e muito forte (+++) na antese e pós-antese com α-naftil-acetato + fast blue B salt durante os três estádios de desenvolvimento floral; S) *Canistrum laningerum* evidenciando resposta positiva fraca (+) na pré antese e muito forte (+++) na antese e pós-antese com peróxido de hidrogênio durante os três estádios de desenvolvimento floral; T) *Canistrum laningerum* evidenciando resposta positiva fraca (+) na pré antese e muito forte (+++) na antese e pós-antese com α-naftil-acetato + fast blue B salt durante os três estádios de desenvolvimento floral. pa = pré-antese, an = antese, po = pós-antese. Barras: A-D, I-L= 500 µm; E-H, M-P= 100 µm; Q-T= 1mm.

As análises morfométricas indicaram variações significativas no comprimento do estilete, do estigma e das papilas estigmáticas. Os maiores comprimentos do estigma foram registrados em *C. aurantiacum* (2,33 ± 0,08 mm), *C. pickelii* (2,19 ± 0,19 mm) e *C. camacaense* (1,87 ± 0,17 mm) (Tabela 4). Por outro lado, *C. auratum* apresentou o menor valor (0,86 ± 0,09 mm). Para o comprimento do estilete, destacaram-se *C. aurantiacum* (28,22 ± 0,20 mm) e *C. alagoanum* (26,14 ± 0,95 mm) (Tabela 4). O comprimento do estilete mostrou-se proporcional ao tamanho floral, sendo maior em espécies com flores maiores e menor naquelas com flores menores.

Todas as espécies de *Canistrum* analisadas apresentaram papilas estigmáticas marginais, de forma tubular ou crenulada, com variações na ornamentação e no comprimento. Papilas tubulares foram observadas em *C. auratum*, *C. camacaense*, *C. improcerum* e *C. laningerum*, enquanto *C. alagoanum*, *C. aurantiacum*, *C. pickellii* e *C. triangulare* apresentaram papilas crenuladas. As papilas estigmáticas mais desenvolvidas foram registradas em, *C. camacaense* (136,5 ± 14,87 µm) e *C. laningerum* (135,8 ± 13,73 µm) (Tabela 4). *Canistrum pickelii e C. triangulare* apresentaram papilas

estigmáticas menos desenvolvidas, medindo respectivamente 34.32 ± 3.89 µm e 39.27 ± 4.23 µm (Tabela 4).

O estigma em Bromeliaceae é estruturalmente composto por três lobos laminados, com papilas especializadas em diferentes tamanhos, responsáveis pela aderência e germinação dos grãos de pólen (Jonsell et al., 1987; Brown e Gilmartin, 1984; 1989; Varadarajan e Brown, 1988). A presença do tipo conduplicado-espiral em todas as espécies de *Canistrum* corrobora os padrões descritos por Brown e Gilmartin (1989), que consideram esse tipo como uma característica ancestral (plesiomórfica) na família. Os diferentes graus de retorcimento observados entre os lóbulos estigmáticos já foram também descritos em espécies de *Aechmea* (Souza et al., 2016) e *Wittmackia* (Nascimento et al., 2025b).

A coloração do estigma pode estar relacionada a fatores ecológicos, como a atração de polinizadores, enquanto a variação na forma e comprimento do estilete pode influenciar diretamente o tipo de polinização favorecida por cada espécie, podendo facilitar tanto a autofecundação quanto promover mecanismos de hercogamia (Souza et al., 2020). A morfometria do estilete e do estigma, aliada à presença e ao desenvolvimento das papilas estigmáticas, exerce papel importante no sucesso reprodutivo, influenciando a adesão dos grãos de pólen e a germinação do tubo polínico (Parton et al., 2001; Edlund et al., 2004; Souza et al., 2017).

A presença de papilas desenvolvidas, como observado em algumas espécies, pode aumentar a eficiência do processo de polinização, ampliando a área de contato com os grãos de pólen (Brown e Gilmartin, 1989), o que representa uma adaptação favorável à reprodução cruzada e à diversificação genética.

Tabela 4. Caracteres morfológicos do estigma e estilete de 13 espécies de *Canistrum* E. Morren (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica.

Espécies	Tipo	Coloração	Estigma (mm)		Estilete (mm)		Comprimento das papilas (µm)
			Comprimento	Diâmetro	Comprimento	Diâmetro	
C. alagoanum	Conduplicado-espiral	Branco	1.72 ± 0.04 c	0.81 ± 0.04 d	26.14 ± 0.95 a	0.42 ± 0.01 c	79.98 ± 2.71 d
C. aurantiacum	Conduplicado-espiral	Amarelo	2.33 ± 0.08 a	2.10 ± 0.20 a	28.22 ± 0.20 a	0.39 ± 0.01 c	55.93 ± 2.25 e
C. auratum	Conduplicado-espiral	Branco	0.86 ± 0,09 f	0.63 ± 0.05 e	19.81 ± 0.33 b	0.32 ± 0.01 c	103.1 ± 6.21 c
C.camacaense	Conduplicado-espiral	Amarelo	1.87 ± 0.17 b	0.82 ± 0.03 d	10.86 ± 0.09 d	0.36 ± 0.03 c	136.5 ± 14.87 a
C. guzmanioides	Conduplicado-espiral	Branco	1.71 ± 0.04 c	0.53 ± 0.03 e	10.32 ± 0.14 d	0.51 ± 0.01 b	00.00 ± 0.00 g
C. improcerum	Conduplicado-espiral	Verde	1.62 ± 0,01 d	0.83 ± 0.01 d	14.89 ± 0.55 c	0.58 ± 0.03 b	110.0 ± 7.66 b
C. laningerum	Conduplicado-espiral	Branco	1.19 ± 0.03 e	1.06 ± 0.02 c	15.41 ± 0.07 c	0.55 ± 0.02 b	135.8 ± 13.73 a
C. montanum	Conduplicado-espiral	Branco	1.64 ± 0.04 d	1.11 ± 0.02 c	17.28 ± 0.21 c	0.31 ± 0.01 c	00.00 ± 0.00 g
C. pickellii	Conduplicado-espiral	Branco	2.19 ± 0.19 a	0.87 ± 0.09 d	19.33 ± 0.42 b	0.72 ± 0.01 a	34.32 ± 3.89 f
C. sandrae	Conduplicado-espiral	Verde	1.50 ± 0.05 d	1.40 ± 0.02 b	14.94 ± 0.24 c	0.54 ± 0.01 b	114.6 ± 3.03 b
C. triangulare	Conduplicado-espiral	Verde	1.17 ± 0.02 e	0.77 ± 0.02 d	15.01 ± 0.14 c	0.39 ± 0.09 c	39.27 ± 4.23 f
CV (%)			8,30	6,28	10,30	7,21	22,32

Médias seguidas da mesma letra não diferiram pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,01$).

Germinação *in vitro* dos grãos de pólen

A análise da germinação *in vitro* dos grãos de pólen evidenciou diferenças significativas entre os três fatores avaliados: os meios de cultura (BM e SM) ($p \leq 0,01$; teste F), os estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese) ($p \leq 0,01$; teste Tukey) e as 13 espécies de *Canistrum* analisadas ($p \leq 0,01$; teste Scott-Knott) (Tabela 5). De modo geral, a antese destacou-se como o estádio mais favorável à germinação e ao crescimento do tubo polínico, seguida pela pré-antese e, por último, pela pós-antese.

A maioria das espécies apresentou percentuais de germinação superiores a 70% na antese, com destaque para *C. aurantiacum*, *C. camacaense* e *C. seidelianum*, que superaram 90% em ambos os meios (Tabela 5; Figuras 4A-F). Por outro lado, *C. triangulare* e *C. improcerum* exibiram os menores percentuais, com menos de 70% de germinação na antese, embora ainda significativamente superiores aos estádios de pré-antese e pós-antese. A pós-antese mostrou-se, em quase todas as espécies, o estádio de menor desempenho, com destaque para *C. triangulare*, que registrou apenas 7,43% de germinação no BM e 8,67% no SM. Esses dados estão em consonância com os testes histoquímicos, que também mostraram maior viabilidade polínica durante a antese (Figura 4G-L).

Tabela 5. Porcentagem de germinação *in vitro* e comprimento do tubo polínico de 13 espécies de *Canistrum* E. Morren (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil, ocorrentes na Mata Atlântica e avaliada em dois meios de cultura (BM e SM) e três estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese).

Espécie	Meio de Cultura	Pré-antese	Antese	Pós-antese
Germinação (%)				
C. alagoanum	BM	78,09 bA	78,71 cA	33,33 dB
	SM	78,70 bA	82,08 bA	31,14 aB
C. aurantiacum	BM	81,99 aB	90,44 aA	85,03 aB
	SM	81,63 aC	91,03 aA	87,02 aB
C. auratum	BM	56,16 eB	68,88 eA	43,08 cC
	SM	68,42 dB	88,79 aA	54,80 dC
C. camacaense	BM	76,83 bC	90,95 aA	84,14 aB
	SM	70,98 cC	85,17 bA	81,14 bB
C. fosterianum	BM	61,83 dB	74,42 dA	42,90 cC
	SM	72,67 cB	88,39 aA	48,98 dC
C. guzmanioides	BM	49,53 fB	84,81 bA	21,67 eC
	SM	52,11 fB	85,52 bA	28,36 fC
C. improcerum	BM	34,73 gB	66,07 fA	31.81 dB
	SM	40,26 hB	67,19 eA	32,54 eC
C. lanigerum	BM	78,36 bB	85,79 bA	45,96 cC
	SM	78,86 bB	87,96 aA	46,75 dC
C. montanum	BM	59,28 dB	71,14 eA	45,06 cC
	SM	62,28 eB	74,20 dA	46,59 dC
C. pickellii	BM	48,42 fC	87,05 bA	81,41 aB
	SM	48,67 gB	87,53 aA	87,35 aA
C. sandrae	BM	81,34 aB	88,67 aA	61,80 bC
	SM	82,92 aA	83,27 bA	63,20 cB
C. seidelianum	BM	69,21cB	84,32 bA	45,35 cC
	SM	76,48 bB	90,33 aA	45,79 dC
C. triangulare	BM	36,62 gB	83,46 bA	7,43 fC
	SM	39,41 hB	79,20 cA	8,67 gC
CV%			6,23	
Comprimento do tubo polínico (mm)				
C. alagoanum	BM	1,12 aB	1,45 aA	0,90 aC
	SM	1,09 aB	1,49 aA	0,97 aC
C. aurantiacum	BM	0,65 cA	0,65 eA	0,60 cB
	SM	0,67 cA	0,67 eA	0,47 cB
C. auratum	BM	0,61 cB	0,74 dA	0,40 fC
	SM	0,66 cB	0,98 bA	0,48 cC
C. camacaense	BM	0,41 dB	0,52 fA	0,50 dA
	SM	0,46 fB	0,55 fA	0,46 cB
C. fosterianum	BM	0,64 cB	0,88 cA	0,47 eC
	SM	0,66 cB	0,93 bA	0,52 bC
C. guzmanioides	BM	0,30 eA	0,37 gA	0,18 hB
	SM	0,37 cB	0,46 gA	0,18 hC
C. improcerum	BM	0,40 dB	0,49 fA	0,34 gB
	SM	0,35 gB	0,57 fA	0,25 eC
C. lanigerum	BM	0,76 bM	0,95 bA	0,79 bB
	SM	0,58 dB	0,98 bA	0,42 cC
C. montanum	BM	0,40 dB	0,49 fA	0,35 gB
	SM	0,40 fB	0,64 eA	0,37 dB
C. pickellii	BM	0,40 dB	0,51 fA	0,53 dA
	SM	0,46 fC	0,59 eA	0,54 bB
C. sandrae	BM	0,72 bA	0,75 dA	0,50 dB
	SM	0,75 bA	0,77 dA	0,45 cB
C. seidelianum	BM	0,63 cA	0,68 eA	0,51 dB

C. triangulare	SM	0,56 dB	0,76 dA	0,55 bB
	BM	0,39 dB	0,74 dA	0,14 hC
	SM	0,48 eB	0,85 cA	0,12 fC
CV%			29,99	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro do mesmo fator, não diferem entre si pelo teste de F e Tukey (p≤ 0,01), respectivamente. Meios de cultura: BM (Parton et al., 2002). SM (Soares et al., 2008).

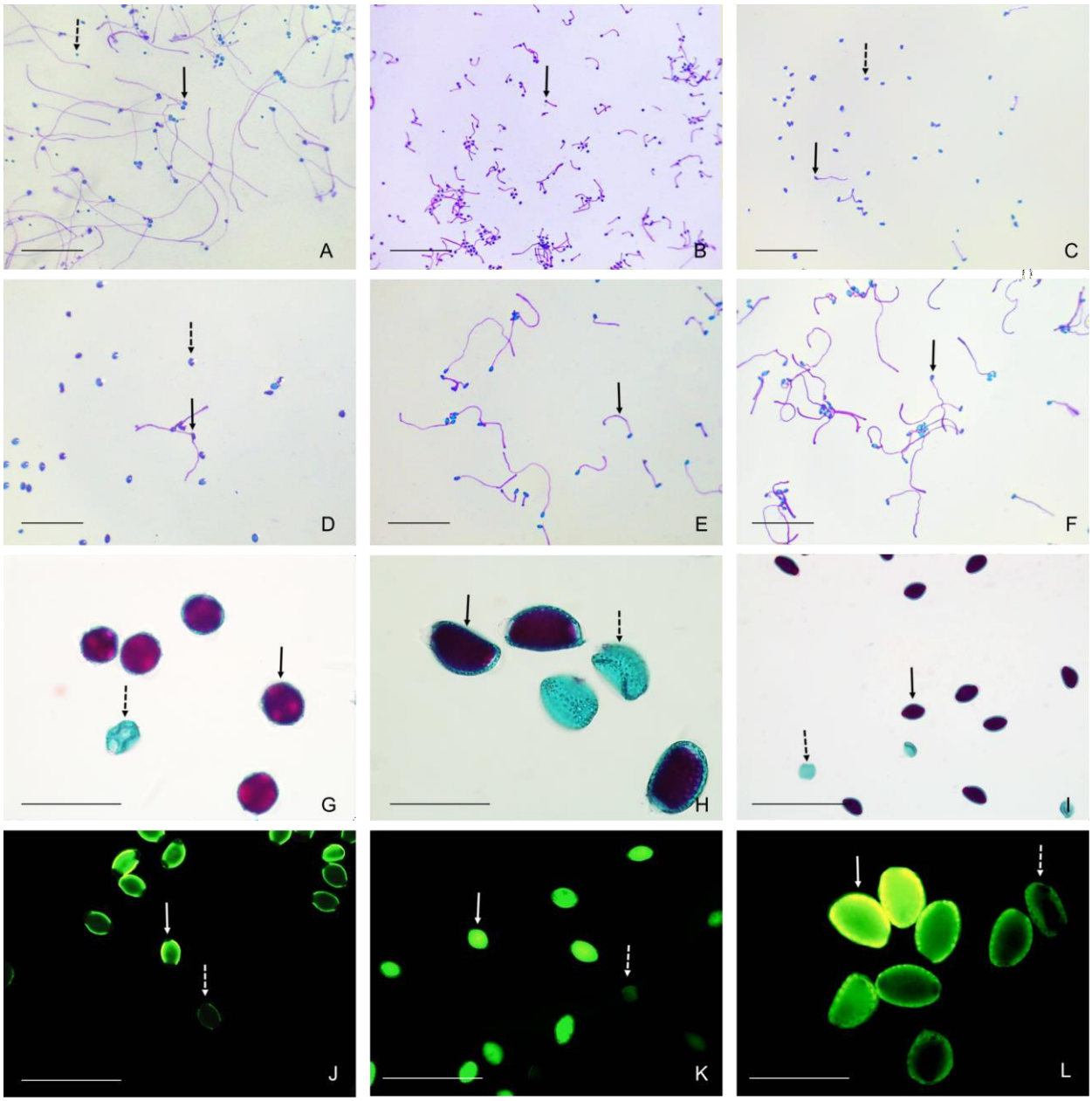


Figura 4. Viabilidade dos grãos de pólen de *Canistrum* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A-F) Germinação dos grãos de pólen. A) Germinação dos grãos de pólen de *Canistrum alagoanum* evidenciando grãos de pólen germinados na antese em meio BM; B) Germinação dos grãos de pólen de *C.*

aurantoacum evidenciando alta viabilidade na pós-antese em meio SM; C) Germinação dos grãos polén de *C. guzmanioides* evidenciando baixa viabilidade na pós-antese em meio BM; D) Germinação de grãos de pólen de *C. improcerum* evidenciando baixa viabilidade na pré-antese em meio BM; E) Germinação dos grãos de pólen de *C. laningerum* evidenciando alta viabilidade na antese, no meio SM; F) Germinação dos grãos de pólen de *C. sandrae* evidenciando alta viabilidade na antese em meio BM. G-L)Testes histoquímicos evidenciando grãos de pólen viáveis (seta contínua) e inviáveis (seta tracejada). A-I) Solução de Alexander 2%. J-L) Diacetato de fluoresceína. G-L) Germinação de grãos de pólen *in vitro* em meios de cultura BM (Parton et al., 2002) e meios de cultura SM (Soares et al., 2008). G) Teste de Alexander com grãos de pólen de *Canistrum aurantiacum* evidenciando alta viabilidade na antese; H) Teste de Alexander com grãos de pólen viáveis e inviáveis de *C. lanigerum* na pré-antese; I) Teste de Alexander com grãos de pólen de *C. montanum* evidenciando grãos de pólen viáveis e inviáveis na antese; J)Teste com diacetato de fluorosceína (FDA) de *C. guzmanioides* evidenciando baixa viabilidade na pré-antese; K) Teste com (FDA) de *C. montanum* evidenciando alta viabilidade na pós-antese; L) Teste com (FDA) de *C. sandrae* evidenciando grãos de pólen viáveis e inviáveis na pré-antese; Barras: A-F = 0,5 mm; G,H = 100 µm; I = 200 µm; J,K = 200 µm; L = 100 µm.

Em relação ao comprimento do tubo polínico, a Tabela 5 também evidencia diferenças significativas entre espécies ($p \leq 0,01$; teste Scott-Knott), meios ($p \leq 0,01$; teste F) e estádios de desenvolvimento floral ($p \leq 0,01$; teste Tukey). De maneira geral, o meio SM apresentou maior eficiência em promover tanto a germinação quanto o comprimento do tubo polínico em várias espécies. O maior valor foi registrado para *C. alagoanum* (1,49 mm) no meio SM durante a antese, seguido de *C. auratum* (0,98 mm) e *C. fosterianum* (0,93 mm), igualmente no SM (Tabela 5). Esses resultados sugerem que, para determinadas espécies, o meio SM ofereceu condições mais favoráveis ao alongamento dos tubos polínicos, possivelmente pela sua composição osmótica mais equilibrada (15% de sacarose) e mais rica em nutrientes. Entretanto, o meio de cultura BM apresentou desempenho superior em diversas espécies, revelando que a resposta é espécie-dependente. Por exemplo, *C. camacaense, C. sandrae e C. triangulare* exibiram maiores porcentagens de germinação no BM, especialmente durante a antese. Em *C. camacaense*, a germinação atingiu 90,95% no meio de cultura BM, superando os valores obtidos no SM (85,17), enquanto o comprimento do tubo polínico foi semelhante

nos dois meios (0,52 mm e 0,55 mm, respectivamente) (Tabela 5). Já *Canistrum triangulare* apresentou 83,46% de germinação no meio de cultura BM durante a antese, maior que no meio SM (79,20%), embora o comprimento do tubo polínico tenha sido inferior (0,74 mm contra 0,85 mm). Em *C. sandrae*, a germinação também foi mais elevada no meio de cultura BM (88,67%) em comparação ao meio SM (83,27%), mas o comprimento do tubo polínico foi ligeiramente maior no SM (0,77 mm) do que no meio BM (0,75 mm) (Tabela 5). Esses dados indicam que, apesar de uma tendência geral favorável ao SM, o BM foi mais eficiente para a germinação em determinadas espécies, possivelmente em razão da maior concentração de sacarose (20%) em comparação ao meio de cultura SM (15%), sugerindo que a composição osmótica pode favorecer algumas espécies.

A sacarose é um componente essencial dos meios de cultura para germinação dos grãos de pólen, pois fornece energia para o crescimento do tubo polínico, além de contribuir para a manutenção da integridade celular e do equilíbrio osmótico (Taylor e Hepler, 1997; Alcaraz et al., 2011; Lyra et al., 2011; García et al., 2012). Segundo Baloch et al. (2001), a sacarose também estimula a síntese de componentes da parede celular, fundamentais para a extensão do tubo polínico. Assim as diferenças entre os meios de cultura BM e SM podem ser explicadas pela variação na concentração desse açúcar.

O SM, com 15% de sacarose, mostrou-se mais adequado para espécies como *C. alagoanum* e *C. auratum*, oferecendo condições osmóticas e energéticas ideais para o crescimento do tubo polínico. Já o BM, com 20% de sacarose, foi mais eficaz em espécies como *C. camacaense e C. triangulare* especialmente em termos de germinação, sobretudo na antese, o que pode indicar uma necessidade metabólica distinta. A literatura destaca que a eficácia do meio depende da fisiologia da espécie, especialmente no que se refere à tolerância osmótica e à demanda energética dos grãos (Taylor e Hepler, 1997; Lyra et al., 2011; Souza et al., 2013).

Resultados semelhantes foram descritos em outras espécies vegetais. Reis et al. (2002) observaram que espécies de *Eucalyptus* responderam melhor ao meio BK suplementado com 30% de sacarose, enquanto Alcaraz et al. (2011) relataram que concentrações excessivas podem reduzir a germinação devido ao estresse osmótico. Dessa forma, o desempenho observado em *Canistrum* reforça a importância de adequar não apenas o meio de cultura, mas também o estádio floral, para garantir dados representativos sobre a viabilidade reprodutiva.

Vale destacar também que o meio de cultura BM (Parton et al. 2002) não possui

todos os sais presentes no meio SM (Soares et al., 2008), sendo considerado um meio mais pobre em nutrientes. Essa característica pode influenciar diretamente a resposta das espécies, uma vez que a menor disponibilidade de íons e compostos minerais pode reduzir a complexidade metabólica envolvida na germinação, ao mesmo tempo em que a maior concentração de sacarose (20%) oferece uma fonte energética e osmótica compensatória. Assim, o desempenho superior observado no BM para algumas espécies pode estar relacionado ao balanço entre a simplicidade nutricional e o aporte energético fornecido pela sacarose, indicando que diferentes exigências fisiológicas entre espécies determinam qual meio é mais eficiente em promover a germinação e o crescimento do tubo polínico.

Independentemente do meio utilizado, os estádios florais exercem impacto expressivo na germinação dos grãos de pólen. Em todas as espécies avaliadas, a antese foi o estádio mais favorável à germinação e ao crescimento do tubo polínico. Esse padrão corrobora estudos prévios em Bromeliaceae, como *Alcantarea nahoumii* (Bastos et al., 2017), *Aechmea, Ananas* e *Vriesea* (Souza et al., 2017), *Tillandsia* (Souza et al., 2020), *Lymania* (Mota et al., 2024) e *Wittmackia* (Nascimento et al., 2025a), que também relataram maior viabilidade polínica e desenvolvimento do tubo polínico durante a antese.

O comportamento observado em *Canistrum* reforça, portanto, a relevância da escolha adequada do meio de cultura e do estádio floral na avaliação da viabilidade polínica. Embora os testes histoquímicos ofereçam uma estimativa preliminar da viabilidade, os dados de germinação *in vitro* e de crescimento dos tubos polínicos são essenciais para inferências mais precisas sobre o sucesso reprodutivo das espécies.

Testes histoquímicos dos grãos de pólen

A análise da viabilidade polínica, realizada por meio de testes histoquímicos, evidenciou diferenças significativas entre as 13 espécies de *Canistrum* ($p \leq 0,01$; teste Scott-Knott) e os estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese) ($p \leq 0,01$; teste Tukey), mas não entre os métodos utilizados (Alexander e FDA) ($p = 6,18$; teste F), que apresentaram resultados consistentes (Tabela 6 e Figura 4G-L). Em geral, os valores foram mais altos na antese, seguidos pela pré-antese e pela pós-antese. Espécies como *C. camacaense*, *C. pickellii*, *C. seidelianum* e *C. aurantiacum* apresentaram taxas superiores a 90% durante a antese, destacando-se pelo elevado potencial reprodutivo. Em contraste, *C. triangulare* exibiu forte redução na pós-antese,

com viabilidade inferior a 10%, enquanto *C. guzmanioides* e *C. improcerum* também mostraram valores baixos (<35%) nesse mesmo estádio. Já *C. sandrae* e *C. auratum* mantiveram percentuais altos tanto na antese quanto na pré-antese, indicando estabilidade da viabilidade ao longo do desenvolvimento floral. Esses resultados evidenciam tanto espécies com elevado desempenho reprodutivo quanto outras com declínio acentuado, possivelmente influenciado por fatores ambientais ou intrínsecos ao ciclo floral.

Resultados semelhantes foram obtidos por Fagundes et al. (2024) em *Dyckia dissitiflora*, que exibiu viabilidade acima de 97% com o uso da solução de Alexander (1969), independentemente do estádio floral. Valores superiores a 70% já são considerados indicativos de boa viabilidade e compatíveis com o sucesso reprodutivo e programas de melhoramento genético (Hister e Tedesco, 2016).

No entanto, algumas espécies apresentaram declínio acentuado na pós-antese, como *C. triangulare*, comportamento também relatado por Souza et al. (2017) em estudo com 18 espécies de Bromeliaceae, em que *Ananas* sp. apresentou viabilidade inferior a 40%. Entretanto, esses valores devem ser interpretados com cautela, uma vez que as diferenças podem estar associadas a diversos fatores, incluindo as condições ambientais de coleta (Costa et al., 2009). Ambientes estressantes podem levar a reduções significativas na viabilidade polínica (Chaturvedi et al., 2021).

Estudos conduzidos por Mota et al. (2024) com nove espécies de *Lymania*, endêmicas do Nordeste brasileiro, também registraram baixa viabilidade no pós-antese (<60%) em algumas delas, associando os resultados à fragmentação de habitats e à degradação ambiental, fatores que podem comprometer os processos reprodutivos.

A análise da viabilidade polínica é uma ferramenta importante em estudos de biologia reprodutiva, pois permite estimar o potencial de fertilização de uma espécie, cultivar ou população. Contudo, embora muitas espécies produzam elevados percentuais de grãos de pólen viáveis, nem todos são efetivamente utilizados na fecundação, já que parte significativa pode ser perdida durante o transporte, seja pelo vento ou por ação de insetos, como no caso da alimentação (Harder e Thomson, 1989).

Os resultados obtidos neste estudo reforçam o elevado potencial reprodutivo das espécies de *Canistrum* analisadas, já que os testes histoquímicos evidenciaram predominância de grãos de pólen viáveis, especialmente durante a antese. No entanto, é importante considerar que o teste histoquímico, apesar de acessíveis e de fácil aplicação, podem superestimar os valores reais de viabilidade (Dafni, 1992; Souza et al.,

2016).

Tabela 6. Histoquímica dos grãos de pólen de 13 espécies de *Canistrum* E. Morren (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil, ocorrentes na Mata Atlântica e avaliada em duas metodologias (Alexander e diacetato de fluoresceína - FDA) em três estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese).

Espécie	Histoquímica	Pré-antese	Antese	Pós-antese
C. alagoanum	Alexander	77,97 bB	84,99 aA	39,00 eC
	FDA	78,31 bA	83,44 aA	33,00 eB
C. aurantiacum	Alexander	83,15 aB	93,11 aA	86,37 aB
	FDA	83,90 aB	93,22 aA	85,54 aB
C. auratum	Alexander	65,43 cB	90,80 aA	55,63 cC
	FDA	63,50 cB	88,20 aA	53,10 cC
C. camacaense	Alexander	75,30 bC	92,72 aA	85,83 aB
	FDA	75,62 bC	92,47 aA	84,41 aB
C. fosterianum	Alexander	66,00 cB	76,27 bA	44,67 dC
	FDA	64,83 cB	73,70 cA	44,97 dC
C. guzmanioides	Alexander	54,78 dB	88,83 aA	24,68 gC
	FDA	56,46 dB	87,05 aA	24,92 fC
C. improcerum	Alexander	44,50 eB	67,62 cA	32,60 fC
	FDA	44,57 eB	65,28 dA	32,71 eC
C. lanigerum	Alexander	79,09 bB	87,65 aA	45,88 dC
	FDA	80,09 aA	86,41 aA	44,76 dB
C. montanum	Alexander	60,17 dB	77,37 bA	45,03 dC
	FDA	60,67 cB	74,28 cA	46,30 dC
C. pickelli	Alexander	58,46 dB	87,50 aA	84,90 aA
	FDA	49,93 eB	89,33 aA	82,76 aA
C. sandrae	Alexander	82,91 aA	87,45 aA	63,76 bB
	FDA	83,59 aA	88,71 aA	61,59 bB
C. seidelianum	Alexander	76,93 bB	91,00 aA	48,40 dC
	FDA	74,67 bB	90,17 aA	50,33 cC
C. triangulare	Alexander	43,85 eB	81,28 bA	8,38 hC
	FDA	47,12 eB	79,79 bA	7,29 gC
CV%			5,28	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro do mesmo fator, não diferem entre si pelo teste de F e Tukey (p≤ 0,01), respectivamente.

A eficácia dos métodos empregados é corroborada por Mota et al. (2024), que avaliaram a viabilidade polínica em nove espécies de *Lymania* utilizando a solução de Alexander e do diacetato de fluoresceína (FDA). Ambos os métodos demonstraram boa correlação com o potencial germinativo observado em condições *in vitro*.

A solução de Alexander (1969) é amplamente utilizada por diferenciar grãos viáveis e inviáveis, com base na coloração do citoplasma e da parede celular. Grãos com citoplasma íntegro adquirem coloração roxa ou azul-escura, enquanto os inviáveis não apresentam essa reação. Já o diacetato de fluoresceína (FDA) avalia a integridade da membrana plasmática, sendo um indicativo confiável da viabilidade celular e da atividade

enzimática (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1970). Uma vez no interior dos grãos viáveis, o corante é hidrolisado por esterases, liberando fluoresceína que se acumula no citoplasma e emite fluorescência verde intensa, em grãos inviáveis, a fluorescência é fraca ou restrita à parede celular (Impe et al., 2020).

Apesar da utilidade desses métodos, é importante destacar que os testes histoquímicos detectam integridade morfológica e enzimática, mas não necessariamente o potencial de germinação real (Dafni, 1992; Souza et al., 2016). Assim, a interpretação dos resultados deve ser feita com cautela, especialmente quando aplicados a estudos de biologia reprodutiva e conservação.

Receptividade do estigma

A análise da receptividade do estigma em 13 espécies de *Canistrum*, avaliada pelos testes de α-naftil-acetato + fast blue B salt e peróxido de hidrogênio a 3%, evidenciou padrões bastante consistentes entre os métodos utilizados, sem diferenças relevantes entre eles (Tabela 7 e Figura 3Q-T). Em contrapartida, verificaram-se variações entre espécies e estádios de desenvolvimento floral.

De modo geral, os estigmas apresentaram reação positiva desde a pré-antese, embora com intensidade mais fraca na maioria das espécies, caracterizada por resposta positiva fraca (+) em ambos os testes. Durante a antese e a pós-antese, a receptividade foi elevada, com predominância de resposta positiva forte (++) e resposta positiva muito forte (+++), sugerindo um amplo intervalo funcional para a polinização (Tabela 7).

Especificamente, espécies como *C. camacaense*, *C. guzmanioides*, *C. montanum* e *C. sandrae* apresentaram reação antecipada já na pré-antese, com intensidade moderada (++) nos dois métodos, indicando que a receptividade estigmática se inicia precocemente no desenvolvimento floral. Entre elas, *C. sandrae* foi a única a apresentar resposta positiva muito forte (+++) já neste estádio, revelando estigmas plenamente funcionais antes da abertura floral (Tabela 7).

As demais espécies, incluindo *C. alagoanum*, *C. aurantiacum*, *C. auratum*, *C. improcerum*, *C. lanigerum*, *C. pickellii* e *C. triangulare*, apresentaram resposta positiva fraca (+) na pré-antese, tornando-se plenamente receptivas apenas a partir da antese, quando todas registraram resposta positiva muito forte (+++) (Tabela 7). Esse padrão indica que, para a maioria das espécies, a eficiência reprodutiva máxima ocorre no período de abertura floral e se estende à pós-antese, mantendo-se estável até os estádios finais da vida da flor.

Portanto, a receptividade do estigma em *Canistrum* caracteriza-se pela elevada intensidade na antese e na pós-antese, com pequenas variações entre as espécies quanto ao início da atividade funcional dos estigmas. Esses resultados reforçam a sincronia entre receptividade estigmática e alta viabilidade polínica observada em muitas espécies, ampliando as chances de sucesso reprodutivo e de formação de sementes.

Tabela 7. Receptividade do estigma em 13 espécies de *Canistrum* E. Morren (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil, ocorrentes na Mata Atlântica e avaliada na pré- antese, antese e pós-antese em duas diferentes metodologias.

Espécies	*α-naftil-acetate + fast blue B salt*			Peróxido de Hidrogênio 3%		
	Pré-antese	Antese	Pós-antese	Pré-antese	Antese	Pós-antese
C. alagoanum	+	+++	+++	+	+++	+++
C. aurantiacum	+	+++	+++	+	+++	+++
C. auratum	+	+++	+++	+	+++	+++
C. camacaense	++	+++	+++	++	+++	+++
C. guzmanioides	++	+++	+++	++	+++	+++
C. improcerum	+	+++	+++	+	+++	+++
C. lanigerum	+	+++	+++	+	+++	+++
C. montanum	++	+++	+++	++	+++	+++
C. pickellii	+	+++	+++	+	+++	+++
C.sandrae	++	+++	+++	+++	+++	+++
C.triangulare	+	+++	+++	+	+++	+++

Dafni e Maués (1998): (-) sem reação; (+) resposta positiva fraca; (++) resposta positiva forte; (+++) resposta positiva muito forte.

Os resultados do presente estudo são consistentes com os de Souza et al. (2016; 2020), que avaliaram a receptividade do estigma em diferentes gêneros de Bromeliaceae. Esses autores verificaram que, na maioria das espécies, a receptividade foi mais elevada durante a antese, embora, em alguns casos, tenha se mantido até dois dias após esse período.

Em investigações anteriores, Parton et al. (2001) constataram que a maioria das espécies analisadas apresentou resposta estigmática fortemente positiva durante a antese, mesmo quando esta ocorria no período noturno. Corroborando esses achados, Silva et al. (2024) registraram elevada receptividade estigmática em sete espécies do gênero *Hohenbergia* enquanto Nascimento et al. (2025b) observaram resultados semelhantes em 23 espécies de *Wittmackia*. De maneira consistente, os dados aqui obtidos reiteram esse padrão de elevada receptividade estigmática nas espécies avaliadas.

Herrero e Dickinson (1981), bem como Dafni e Maués (1998), destacaram que a receptividade estigmática está intimamente associada à presença de secreções no estigma e à atividade de enzimas como esterase e peroxidase.

O teste com peróxido de hidrogênio a 3% é amplamente utilizado por sua simplicidade e baixo custo. Esse método identifica a presença da enzima peroxidase na superfície do estigma, formando bolhas de ar visíveis a olho nu em decorrência da reação enzimática (Zeisler, 1933). No entanto, apesar de sua praticidade, não é recomendada a aplicação isolada desse teste, pois danos ao estigma podem gerar falsos positivos (Dafni e Maués, 1998; Souza et al., 2016). Por essa razão, recomenda-se sua associação a outros métodos e a adoção de cuidados na manipulação do material.

Complementarmente, o teste com α-naftil-acetato + fast blue B salt permite identificar de forma rápida a atividade da enzima esterase, evidenciada por coloração de roxo a marrom-escura nas regiões estigmáticas receptivas (Souza et al., 2016; 2020). Neste estudo, a utilização dessa solução mostrou-se eficiente para as espécies avaliadas, produzindo resultados equivalentes aos do teste com peróxido de hidrogênio.

De acordo com Souza et al. (2022), a receptividade estigmática é fator determinante em programas de cruzamentos controlados e hibridação, uma vez que o sucesso da fecundação depende da sincronização entre viabilidade polínica e receptividade do estigma (Zulkarnain et al., 2019). Nesse contexto, torna-se essencial que ambos os processos estejam ajustados em todos os estádios florais, evitando barreiras temporais, como a dicogamia, que pode se manifestar sob a forma de protoginia (maturação precoce do gineceu) ou protandria (maturação antecipada do androceu) (Souza et al., 2016).

CONCLUSÕES

O gênero *Canistrum* não apresenta um padrão palinológico uniforme, sendo caracterizado por grãos de pólen do tipo mônade e por expressiva variabilidade morfológica em forma, polaridade, simetria e ornamentação do lúmen da exina. Esses caracteres reforçam sua utilidade como marcadores taxonômicos e para a compreensão da diversidade no grupo.

Todos os estigmas analisados são do tipo conduplicado-espiral, com diferenças no desenvolvimento das papilas estigmáticas e variação de coloração entre branca, amarela ou verde, confirmando a diversidade estrutural do gênero e seu potencial valor diagnóstico.

A germinação *in vitro* demonstrou que a antese é o estádio mais favorável, com desempenho superior no meio SM para a maioria das espécies, embora o BM também tenha sido eficaz em alguns casos. Esses resultados ressaltam que o sucesso germinativo depende da interação entre a fisiologia da espécie, o meio de cultura e o estádio floral.

As análises histoquímicas evidenciaram elevada viabilidade polínica em todas as espécies, resultado corroborado pelos ensaios de germinação *in vitro*. Esses testes se mostram ferramentas eficazes para a estimativa da viabilidade polínica em *Canistrum*, contribuindo para estudos reprodutivos e de conservação.

A receptividade estigmática foi maior durante a antese e manteve-se elevada na pós-antese, indicando sincronia entre pólen e estigma e sugerindo ausência de dicogamia na maioria das espécies estudadas. Esse padrão reforça o papel do estigma como componente determinante para o sucesso reprodutivo.

De forma aplicada, os estudos sobre morfologia, germinação, viabilidade polínica e receptividade estigmática em *Canistrum* fornecem subsídios relevantes para estratégias de conservação, para a delimitação taxonômica e para programas de melhoramento genético, favorecendo o êxito em cruzamentos controlados e a preservação de espécies endêmicas da Mata Atlântica.

REFERÊNCIAS

ALCARAZ, M.L.; MONTSERRAT, M.; HORMAZA, J.I. *In vitro* pollen germination in avocado (*Persea americana* Mill.): Optimization of the method and effect of temperature. **Scientia Horticulturae**, v. 130, p. 152156, 2011.

ALEXANDER, M.P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bactéria. **Stain Technology**, v. 55, n. 1, p. 13-18,1980.

ALEXANDER, M.P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. **Stain Technology**, v. 44, n. 1, p. 117-22, 1969.

BALOCH, M.J.; LAKHO, A,R.; BHUTTO, H.; SOLANGi, M.Y. Impact of sucrose concentrations on *in vitro* pollen germination of Okra, *Hibiscus esculentus*. **Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 4, p. 402-403, 2001.

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

BASTOS, M.J.S.M.; BASTOS, L.P.; SOUZA, E.H.; SOARES, T.L.; MORAIS, D.V.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C. Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, n. 4, p. 665-676, 2017.

BRANCO, A.F.V.C.; LIMA, P.V.P.S.; MEDEIROS FILHO, E.S.; COSTA, B.M.G.; PEREIRA, T.P. Avaliação da perda da biodiversidade na Mata Atlântica. **Ciência Florestal**, v. 31, n. 4, p. 1885-1909, 2021.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022. **Atualiza as listas oficiais das espécies da flora e da fauna brasileiras ameaçadas de extinção**. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 109, p. 76–82, 8 jun. 2022. Disponível em: https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733. Acesso em: 4 jun. 2025.

BRATZEL, F.; PAULE, J.; LEEBENS-MACK, J.; LEME, E.M.C. Target-enrichment sequencing reveals for the first time a well-resolved phylogeny of the core Bromelioideae (family Bromeliaceae). **Taxon,** v. 72, n. 1, p. 43-57, 2023.

BREWBAKER, J.L.; KWACK, B.H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube gowth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1993.

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

BROWN, G.K.; GILMARTIN, A.J. Stigma structure and variation in Bromeliaceae-Neglected taxonomic characteres. **Brittonia**, v. 36, p. 364-374, 1984.

BYERS, K.J.; VELA, J.P.; PENG, F.; RIFFELL, J.A.; BRADSHAW, H.D. Floral volatile alleles can contribute to pollinator-mediated reproductive isolation in monkeyflowers (*Mimulus*). **The Plant Journal,** v. 80, n. 6, p. 1031-1042, 2014.

CHATURVEDI, P.; WIESE, A.J.; GHATAK, A.; DRÁBKOVÁ, L.Z.; WECKWERTH, W.; HONYS, D. Heat stress response mechanisms in pollen development. **The New Phytologist,** v. 231, n. 2, p. 571-585, 2021.

COSTA, R.S.; MÔRO, F.V.; OLIVEIRA, J.C. Influência do momento de coleta sobre a viabilidade de grão de pólen em maracacujá-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 4, p. 956-961, 2009.

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

DAFNI, A.; MAUÉS, M.M. A rapid and simple method to determine stigma receptivity. **Sexual Plant Reproduction**, v. 2, n. 3, p. 117-180, 1998.

DIAS, M.L.; PREZOTO, F.; ABREU, P.F.; MENINI NETO, L. Bromélias e suas principais interações com a fauna. **CES Revista**, v. 28, n. 1, p. 3-16, 2014.

EDLUND, A.F.; SWANSON, R.; PREUSS, D. Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination. **The Plant Cell**, v. 16, p. S84-S97, 2004.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy**. Angiosperms. Atockholm: Almqvist and Wiksell, 1952. 248 p.

FAEGRI, K.; VANDERPULL, L. **The principles of pollination ecology**. London: Pergamom Press, 3. ed., 1979. 244 p.

FERREIRA, M.D.F.; LEME, E.M.; AONA, L.Y.; SOUZA, F.V.D.; MOURA, H.; SOUZA, E.H. Microendemism, high diversity and taxonomic novelties in Bromeliaceae: studies from an Atlantic Forest hotspot in Bahia, Brazil. **Journal for Nature Conservation**, v. 79, p. 126599, 2024.

FORZZA, R.C.; COSTA, A.F.; MACIEL, J.R.; KESSOUS, I.M.; MONTEIRO, R.F.; FARIA, A.P.G.; TARDIVO, R.C.; BÜNEKER, H.M.; SARAIVA, D.P.; MOREIRA, B.A.;JACQUES, S.S.A.; ALMEIDA, M.M.; SANTOS-SILVA, F.; LOUZADA, R.B.;MOURA, R.L.; COUTO, D.R.; NEVES, B.; OLIVEIRA, F.M.C.; ARAÚJO, C.C.; GONÇALVES-OLIVEIRA, R.C.; VERSIEUX, L.M.; ROMANINI, R.P.; MACHADO,T.M.; SILVA, R.S.A.; SOUZA, B.P.; GOMES-DA-SILVA, J.; URIBBE, F.P. ;GUARÇONI, E.A.E.; SOUSA, L.O.F.; PONTES, R.A.S.; NOGUEIRA, M.G.C.;SOUSA, G.M.; KOCH, A.K.; PICANÇO, W.L.; CARDOSO, P.H.; MARTINS, S.E.; BARBOSA-SILVA, R.G.; WANDERLEY, M. G. L. **Bromeliaceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB66. Acesso em: 12 ago. 2025.

GARCÍA, C.C.; GUARNIERI, M.; PACINI, E. Tomato pollen tube development and carbohydrate fluctuations in the autotrophic phase of growth. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n. 6, p. 2341-2347, 2012.

GOUDA, E.J.; BUTCHER, D.; DIJKGRAAF, L. **Encyclopaedia of Bromeliads, Version 5**. 2023. Disponível em: http://bromeliad.nl/encyclopedia/ Utrecht University Botanic Gardens. Acesso em: 05 ago. 2025.

HALBRITTER, H.; ULRICH, S.; GRÍMSSON, F.; WEBER, M.; ZETTER, R.; HESSE, M.; BUCHNER, R.; SVOJTKA, M.; FROSCH-RADIVO, A. **Illustrated pollen terminology**. 2 ed. Vienna: Springer, 2018. 487 p.

HARDER, L.D.; JOHNSON, S.D. Function and evolution of aggregated pollen in angiosperms. **International Journal of Plant Sciences**, v. 169, n. 1, p. 59-78, 2008.

HARDER, L.D.; THOMSON, J.D. Evolutionary options for maximizing pollen dispersal of animal-pollinated plants. **The American naturalist**, v. 133, n. 3, p. 323-344, 1989.

HARLEY, M.M.; MORTON, C.M.; BLACKMORE, S. **Pollen and Spores**: Morphology and Biology. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew, 2000. 530 p.

HELLER, S.; LEME, E.M.C.; SCHULTE, K.; BENKO-ISEPPON, A.M.; ZIZKA, G. Elucidating phylogenetic relationships in the Aechmea alliance: AFLP analysis of *Portea* and the *Gravisia* complex (Bromeliaceae, Bromelioideae). **Systematic Botany**, v. 40, n. 3, p. 716-725, 2015.

HERRERO, M.; DICKINSON, H.G. Ultrastructural and physiological differences between buds and mature flowers of Petunia hybrid prior to and following pollination. **Planta**, v.148, n. 2, p.138-145, 1981.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. **Stain technology**, v. 45, n. 3, p. 115-120, 1970.

HESSE, M.; HALBRITTER, H.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROSCHRADIVO, A.; ULRICH, S. **Pollen terminology.** An illustrated handbook. Wien: Springer, 2009, 259 p.

HISTER, C.A.L.; TEDESCO, S.B. Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleyanum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, p. 135-141, 2016.

IMPE, D.; REITZ, J.; KÖPNICK, C.; ROLLESCHEK, H.; BÖRNER, A.; SENULA, A.; NAGEL, M. Assessment of pollen viability for wheat. **Frontiers in Plant Science,** v. 10, e. 1588, 2020.

JONSELL, B.; DAHLGREN, R.M.T.; CLIFFORD, H.T.; YEO, P.F. The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy. **Nordic Journal of Botany**, v. 7, n. 3, p. 254, 1987.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, n. 2, p. 137-138A, 1965.

LEME, E.M.C. ***Canistrum***, Bromélias da Mata Atlântica. Rio de Janeiro: Ed. Salamandra, 1997, 107 p.

LEROY, C.; CORBARA, B.; DÉJEAN, A.; CÉRÉGHINO, R. Ants mediate foliar structure and nitrogen acquisition in a tank-bromeliad. **New Phytologist**, v. 183, n. 2, p. 267-278, 2009.

LYRA, D.H.; SAMPAIO, L.S.; PEREIRA, D.A.; SILVA, A.P.; AMARAL, C.L.F. Pollen viability and germination in *Jatropha ribifolia* and *Jatropha mollissima* (Euphorbiaceae): species with potential for biofuel production. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 3, p. 368-374, 2011.

MACIEL,J.R. ***Canistrum in*** **Flora do Brasil 2020.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB5974>. Acesso em: 21 jul. 2025

MARTINELLI, G.; VIEIRA, C.M.; LEITMAN, P.; SANTOS, M.F.; FORZZA, R.C.; COSTA, A.F.; CAMPOS, M.A.; LIMA, H.C.; SANTOS-SILVA, F.; SOBRADO, C. Bromeliaceae da Mata Atlântica Brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. **Rodriguésia**, v. 59, n. 1, p. 209-258, 2008.

MIYAKI, C.Y.; CRUZ, F.W.; HICKERSON, M.; MICHELANGELI, F.A.; PINTO-DA-ROCHA, R.; THOMAS, W.; CARNAVAL, A.C. A multidisciplinary framework for biodiversity prediction in the Brazilian Atlantic Forest hotspot. **Biota Neotropica**, v. 22, p. e20221339, 2022.

MOTA, S.S.; FARO, I.A.M.; CAVALCANTE, B.P.C.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Reproductive systems and hybridization of *Lymania* species (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil threatened with extinction. **Scientia Horticulturae**, v. 322, p. 1-11, 2023.

MOTA, S.S.; FARO, I.A.M.; SOARES, T.L.; ALMEIDA, P.S.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; ROSSI, M.L.; SOUZA, E.H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 338, e. 112890, 2024.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.; MITTERMEIER, C.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature,** v. 403, p. 853–858, 2000.

NASCIMENTO, G.Q.S.S.; SILVA, T.A.; ALMEIDA, P.S.; ROSSI, M.L.; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Pollen and stigma morphology, pollen viability and stigma receptivity of *Wittmackia species* (Bromeliaceae) by light, fluorescence and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 88, n. 5, p. 1451-1477, 2025a.

NASCIMENTO, G.Q.S.S.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Reproductive systems and hybridization for ornamental use of *Wittmackia* (Bromeliaceae) endemic to Brazil and occurring in the Atlantic Forest fragments. **Euphytica,** v. 221, n. 40, p. 1-21, 2025b.

PARTON, E.; VERVAEKE, I.; DEROOSE, M. P.; PROFT, D. Interspecific and intergeneric fertilization barriers in Bromeliaceae. **Acta Horticulture**, v. 552, p. 43-54, 2001.

PARTON, E.; VERVAEKE, R. DELEN, B.R. VANDENBUSSCHE, R. DE PROFT, M. Viability and storage of bromeliad pollen**. Euphytica**, v. 125, p. 155-161, 2002

PEARSE, A.G.E. **Histochemistry, theoretical and applied**. 2.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone. Elsevier, 1972. 631 p.

PRIEU, C.; MATAMORO-VIDAL, A.; RAQUIN, C.; DOBRITSA, A.; MERCIER, R.; GOUYON, P.-H.; ALBERT, B. Aperture number influences pollen survival in *Arabidopsis* mutants. **American Journal of Botany**, v. 103, n. 3, p. 452-459, 2016.

PRIEU, C.; SAUQUET, H.; GOUYON, P.-H.; ALBERT, B. More than sixty origins of pantoporate pollen in angiosperms. **American Journal of Botany,** v. 104, n. 12, p. 1837-1845, 2017.

PUNT, W.; HOEN, P.P.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology,** v. 143, n. 1-2, p.1-81, 2007.

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. 2023.

RASBAND, W.S. **ImageJ,** U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 1997-2018. Disponível em: <http://imagej.nih.gov/ij/> Acesso em: 06 jun 2023.

RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de preparation des grains de pollen fragiles. **Adansonia**, v. 2, n. 11, p. 77-79, 1979.

REIS, L.C.; OLIVEIRA, H.C.; PÔRTO, K.C. Distribution, ecology and reproduction of bryophytes in a preserved remnant of Atlantic Forest in south of Bahia, Brazil. **Oecologia Australis,** v. 27, n. 1, p. 33-57, 2023.

REIS, M. S.; FENILLI, T.A.B.; FERRARI, M.P.; OLIVEIRA, L.S.**Influência do meio de cultura na germinação do pólen de três espécies de *Eucalyptus***. Colombo: Embrapa Florestas, 2002. 4 p.

SARWAR, A.K.M.G.; TAKAHASHI, H. Pollen morphology of *Kalmia* (Phyllodoceae, Ericaceae) and its taxonomic significance. **Bangladesh Journal of Plant Taxonomy**. v. 19, p.123-133, 2012.

SCHULTE, K.; BARFUSS, M.H.J.; ZIZKA, G. Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 51, n. 2, p. 327-339, 2009.

SHIVANNA, K.R.; JOHRI, B.M. **The Angiosperm Pollen**: Structure and Function. New Delhi: Wiley Eastern Limited, 1985. 349 p.

SILVA, R.L.; SOUZA, E.H.; VIEIRA, L.V.; PELACANI, C.R.; SOUZA, F.V. Cryopreservation of pollen of wild pineapple accessions. **Scientia Horticulturae**, v. 219, n. 1, p. 326-334, 2017.

SILVA, T.A.; NASCIMENTO, G.Q.S.S.; ALMEIDA, P.S.; CAVALCANTE, B.P.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Pollen morphology, viability, and stigma receptivity of Hohenbergia (Bromeliaceae) species occurring in the Atlantic forest biome with potential for landscaping and cut flowers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 72, n. 2, p. 2007-2029, 2024.

SOARES, T.L.; SILVA, S.O.; COSTA, M.A.P.C.; SANTOS-SEREJO, J.A.; SOUZA, A.S.; LINO, L.S.M.; SOUZA, E.H.; JESUS, O.N. *In vitro* germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 111-118, 2008.

SOUZA, C.G.F.; RAMOS, S.M.B.; NIETSCHE, S.; POSSOBOM, C.C.; ALMEIDA, E.F.A.; PEREIRA, M.C.T. Viability of pollen grains and stigma receptivity in Desert Rose Received. **Ornamental Horticulture,** v. 28, n.1, p. 92-98, 2022.

SOUZA, E.H.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; MARTINELLI, A.P. Stigma structure and receptivity in Bromeliaceae. **Scientia Horticulturae,** v. 203, n. 1, p. 118-125, 2016.

SOUZA, E.H.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; LEDO, C.A.S.; MARTINELLI, A.P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic Forest. **Euphytica**, v. 204, n. 1, p. 13-28, 2015.

SOUZA, E.H.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; PACKER, R.M.; CRUZ-BARROS, M.A.V.; MARTINELLI, A.P. Pollen morphology and viability in Bromeliaceae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, p. 3067-3082, 2017.

SOUZA, F.V.D.; SOUZA, E.H.; SENA NETO, A.R.; MARCONCINI, J.M.; ASSIS, S.A.; CUNHA, G.A.P. Production for Other Uses. In: SANEWSKI, G.M.; BARTHOLOMEW, D.; PAULL, R.E. (Org.). **The pineapple**: botany, production and uses. 2ed. Abingdon: CABI International, 2018, pp. 222-232.

SOUZA, S.O.; OLIVEIRA, R.S.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.L.; ROSSI, M.L.; SOUZA, E.H. Morphoanatomy and stigma receptivity in *Tillandsia L.* (Bromeliaceae) occurring in Bahia. **Nordic Journal Botany**, v. 38. n. 9, p. 1-10, 2020.

SOUZA, S.O; OLIVEIRA, R.S.; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; SOARES, T.L.; ROSSI, M.L.; SOUZA, E.H. Pollen morphology and viability of *Tillandsia* (Bromeliaceae) species by light microscopy and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 84, n. 3, p. 441-459, 2021.

SOUZA, V.A.B.; VALE, E.M.; GOMES, S.O.; COSTA, M.P.S.D.; GUIMARÃES, A.R.C. Efeito da concentração de sacarose na germinação in vitro do pólen de cinco acessos de bacurizeiro (*Platonia insignis* MART.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 677-684, set. 2013.

TARDIVO, R.C.; CERVI, A.C. O gênero *Canistrum* E. Morren (Bromeliaceae) no Estado do Paraná. **Acta Botanica Brasilica**, v. 11, n. 2, p. 259-271, 1997.

TAYLOR, L.P.; HEPLER, P.K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 461-491, 1997.

TRUNSCHKE, J.; LUNAU, K.; PYKE, G.H.; REN, Z.X.; WANG, H. Flower color evolution and the evidence of pollinator-mediated selection. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 617-851, 2021.

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

WANDERLEY, M.G.L.; MELHEM, T.S. Flora polínica da reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga - Família 178 - Bromeliaceae. **Hoehnea,** v. 18, n. 1, p. 5-42. 1991.

WANG, R.; DOBRITSA, A.A. Exine and aperture patterns on the pollen surface: their formation and roles in plant reproduction. **Annual Plant Reviews**, v. 1, p. 1-40, 2018.

ZEISLER, M. Uber die Abgrenzung des eigentlichen Narbenflache mit Hilfe von Reaktionen. **Beihefte zum Botanischen Centralblatt**, v. 58, p. 308-318, 1933.

ZHANG, W.; ZHAO, M.; FAN, J.; ZHOU, T.; CHEN, Y.; CAO, F. Study on relationship between pollen exine ornamentation pattern and germplasm evolution in flowering crabapple. **Scientific Reports,** v. 7, e. 39759, 2017.

ZULKARNAIN, Z.; ELIYANTI, E.; SWARI, E.I. Pollen viability and stigma receptivity in *Swainsona formosa* (G. Don) J. Thompson (Fabaceae), an ornamental legume native to Australia. **Ornamental Horticulture,** v. 25, p. 158-167, 2019.

CAPÍTULO 2

MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA EM *Portea* (BROMELIOIDEAE: BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA

* Capítulo a ser ajustado e submetido ao periódico “Nordic Journal of Botany”.

MORFOLOGIA, VIABILIDADE POLÍNICA E RECEPTIVIDADE DO ESTIGMA EM *Portea* (BROMELIOIDEAE: BROMELIACEAE) ENDÊMICAS DO BRASIL E OCORRENTES NA MATA ATLÂNTICA

RESUMO: O gênero *Portea* (Bromeliaceae) é endêmico do Brasil e concentra elevada diversidade na Mata Atlântica, bioma atualmente reduzido e fragmentado, o que ressalta a necessidade de estudos reprodutivos que subsidiem estratégias de conservação. Este trabalho tem como objetivo caracterizar a morfologia polínica e estigmática, a viabilidade dos grãos de pólen e a receptividade estigmática em oito espécies de *Portea*, discutindo suas implicações taxonômicas, conservacionistas e aplicadas. Foram realizadas análises morfométricas dos grãos de pólen por microscopia eletrônica de varredura e óptica, mensurações do estigma e estilete, testes histoquímicos de viabilidade com Alexander e diacetato de fluoresceína (FDA), ensaios de germinação *in vitro* em meios BM e SM e avaliações de receptividade estigmática por peróxido de hidrogênio e α-naftil- acetato com fast blue B salt. Os resultados mostram que a morfologia polínica apresenta padrão uniforme, com grãos pantoporados e ornamentação reticulada da exina, embora haja variações quantitativas entre as espécies. Os estigmas apresentam dois tipos principais: conduplicado-espiral, predominante no gênero, e conduplicado-patente, exclusivo de *Portea filifera*, sugerindo importância diagnóstica para delimitação taxonômica. Os testes histoquímicos evidenciam alta viabilidade polínica na antese, com concordância entre os dois métodos utilizados. A germinação *in vitro* confirma a antese como estádio mais favorável, com maiores percentuais e tubos polínicos mais longos no meio SM, destacando espécies como *P. grandiflora* e *P. nana*. A receptividade estigmática é elevada na antese e mantém-se na pós-antese, indicando sincronia entre grãos de pólen e estigma. De forma integrada, os dados obtidos demonstram que *Portea* apresenta sistema reprodutivo eficiente, caracterizado por grãos de pólen viáveis, boa germinação e estigmas funcionalmente receptivos. Esses achados ampliam o conhecimento sobre a biologia reprodutiva do gênero e oferecem subsídios aplicados para conservação, taxonomia e programas de cruzamentos controlados em Bromeliaceae da Mata Atlântica.

PALAVRAS-CHAVE: Bromélia, Biologia Floral, Endemismo, Palinologia, Grãos de Pólen, Reprodução.

POLLEN MORPHOLOGY, VIABILITY, AND STIGMA RECEPTIVITY IN *Portea* (BROMELIOIDEAE: BROMELIACEAE) ENDEMIC TO BRAZIL AND OCCURRING IN THE ATLANTIC FOREST

ABSTRACT: The genus *Portea* (Bromeliaceae) is endemic to Brazil and harbors high diversity in the Atlantic Forest, a biome currently reduced and fragmented, which highlights the need for reproductive studies to support conservation strategies. This study aims to characterize pollen and stigma morphology, pollen viability, and stigma receptivity in eight *Portea* species, discussing their taxonomic, conservation, and applied implications. Morphometric analyses of pollen grains were performed using scanning electron and light microscopy, together with measurements of stigma and style, histochemical viability tests with Alexander's stain and fluorescein diacetate (FDA), *in vitro* pollen germination assays on BM and SM media, and stigma receptivity evaluations using hydrogen peroxide and α-naphthyl acetate with fast blue B salt. The results show that pollen morphology displays a uniform pattern, with pantoporate grains and reticulate exine ornamentation, although quantitative variations are recorded among species. Stigmas present two main types: conduplicate-spiral, predominant in the genus, and conduplicate-patent, exclusive to *Portea filifera*, suggesting diagnostic importance for taxonomic delimitation. Histochemical tests indicate high pollen viability at anthesis, with consistency between both methods employed. *In vitro* germination assays confirm anthesis as the most favorable stage, with higher percentages and longer pollen tubes in SM medium, particularly in *P. grandiflora* and *P. nana*. Stigma receptivity is high at anthesis and remains elevated in post-anthesis, indicating synchrony between pollen grains and stigma. Overall, the data demonstrate that *Portea* exhibits an efficient reproductive system, characterized by viable pollen, satisfactory germination, and functionally receptive stigmas. These findings expand knowledge on the reproductive biology of the genus and provide applied insights for conservation, taxonomy, and controlled crossing programs in Atlantic Forest Bromeliaceae.

KEYWORDS: Bromeliaceae, Floral Biology, Endemism, Palynology, Pollen Grains, Reproduction.

INTRODUÇÃO

O gênero *Portea* é um grupo de Bromeliaceae endêmico do Brasil, com distribuição restrita principalmente aos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Bahia, sendo este último o que apresenta a maior diversidade de espécies (Forzza et al., 2015; Almeida et al., 2020). As espécies de *Portea* apresentam hábito epífito, terrestre e saxícola, ocupando desde áreas de florestas densas e úmidas até ecossistemas de restinga, onde ocorrem em solos arenosos expostos à alta luminosidade (Oliveira et al., 2018; Moura et al., 2007). Com porte médio a grande, essas espécies apresentam folhas rígidas dispostas em rosetas que formam tanques foliares, estruturas que acumulam água da chuva, atuando como reservatórios essenciais para o microclima local e para diversas formas de vida aquática (Rocha et al. 2004; Cogliatti-Carvalho et al., 2010).

O gênero *Portea* foi estabelecido pelo botânico alemão Karl Heinrich Emil Koch, e a primeira espécie descrita foi *Portea petropolitana* (Baker, 1889), que permanece como referência para o grupo. Recentemente, em 2025, foi publicada uma nova espécie, *Portea santosiana* Leme & E.H.Souza, aumentando a diversidade conhecida e ressaltando a importância da contínua exploração e descrição da flora brasileira (Leme et al., 2025). Das oito espécies atualmente reconhecidas no gênero, seis são endêmicas da Bahia: *Portea alatisepala*, *P. filifera*, *P. grandiflora*, *P. kermesina*, *P. nana* e *P. santosiana*. Dentre essas, quatro estão oficialmente listadas como ameaçadas de extinção *P. alatisepala* e *P. grandiflora*, classificadas como ‘Vulnerável’, e *P. kermesina* e *P. nana*, classificadas como ‘Em Perigo’ (Forzza et al., 2013; Bahia, 2017; Brasil, 2022). A espécie *P. petropolitana* foi avaliada como ‘Pouco Preocupante’ e *P. silveirae, P. filifera* e *P. santosiana* não foram ainda avaliadas quando ao grau de ameaça. Esse panorama evidencia tanto o elevado grau de endemismo quanto a significativa ameaça de parte das espécies do gênero, especialmente na Bahia, tornando essencial o desenvolvimento de estratégias de conservação dessas espécies.

Os tanques foliares das Bromélias criam micro-habitats aquáticos que sustentam uma elevada diversidade de organismos, incluindo bactérias heterotróficas, protozoários, invertebrados aquáticos e algas (Aguilar-Cruz et al., 2022). Esses microecossistemas são fundamentais para a ciclagem de nutrientes, influenciando processos ecológicos e contribuindo para a biodiversidade local em diferentes escalas. Além disso, os tanques foliares desempenham papel importante na manutenção da umidade e oferecem refúgio

para diversas espécies em ambientes sujeitos a variações sazonais de umidade e temperatura (Medeiros et al., 2022; Amaral-Filho e Maciel., 2024).

Entretanto, as espécies de *Portea* vêm sofrendo impactos negativos decorrentes da fragmentação e perda dos habitats naturais, principalmente devido ao desmatamento, expansão agrícola, urbanização e alterações climáticas (Forzza et al., 2013; Haddad et al., 2015). A Mata Atlântica, principal bioma onde ocorrem essas Bromeliaceae, retém menos de 12% da sua cobertura original, configurando uma situação crítica para a conservação da diversidade florística endêmica (Ribeiro et al., 2009). Diante desse cenário, o conhecimento aprofundado da biologia reprodutiva, ecologia e fisiologia de *Portea* torna-se imprescindível para o desenvolvimento de estratégias de conservação efetivas.

Estudos sobre viabilidade e germinação do pólen, juntamente com a análise da morfologia e ultraestrutura dos grãos de pólen e do estigma, são essenciais para compreender os mecanismos reprodutivos dessas espécies (Souza et al., 2016; Leme et al., 2017; Nascimento et al., 2025a). A caracterização morfológica do pólen contribui para o refinamento taxonômico e para o entendimento dos sistemas de reprodução, incluindo aspectos de autocompatibilidade, mecanismos de polinização e barreiras reprodutivas (Souza et al., 2017a; Broz e Bedinger, 2021). A germinação dos grãos de pólen em meio *in vitro* permite testar a viabilidade e as condições ótimas para o crescimento do tubo polínico, o que é fundamental para cruzamentos controlados visando a geração de híbridos e o aumento da variabilidade genética (Brewbaker e Kwack, 1963; Taylor e Hepler, 1997).

A receptividade do estigma é outro fator crítico para o sucesso da reprodução sexual, envolvendo características físicas e bioquímicas que possibilitam a adesão, hidratação e germinação do grão de pólen (Heslop-Harrison e Shivanna, 1977; Crispim et al., 2017; Nascimento et al., 2025a). A presença e atividade de enzimas como peroxidase, esterase e desidrogenase indicam o estado fisiológico do estigma e sua capacidade de interação com o pólen, influenciando a fertilização e a formação do embrião (Dafni e Maués, 1998; Souza et al., 2016). Avaliações histoquímicas, combinadas com estudos morfológicos, fornecem informações detalhadas sobre as fases de receptividade e sobre os processos envolvidos na polinização.

O estudo integrado da biologia reprodutiva, incluindo testes de viabilidade do pólen com métodos histoquímicos e fluorescentes, análise da germinação e desenvolvimento dos tubos polínicos, bem como a caracterização da receptividade

estigmática, contribui para a conservação *ex situ* e *in situ* das espécies do gênero *Portea* (Rocha et al., 2021; Silva et al., 2024). Esses conhecimentos são fundamentais para o manejo genético, o desenvolvimento de bancos de germoplasma e a formulação de estratégias de recuperação ambiental, promovendo a sustentabilidade do uso dos recursos naturais e a preservação da biodiversidade da Mata Atlântica (Ferreira et al., 2024).

Este trabalho tem como objetivo apresentar a caracterização da morfologia dos grãos de pólen e do estigma, a viabilidade polínica (avaliada por testes histoquímicos e germinação *in vitro* dos grãos de pólen) e a receptividade estigmática em espécies de *Portea* endêmicas da Mata Atlântica do Brasil, discutindo suas implicações taxonômicas, ecológicas e de conservação e manejo dessas espécies em seu ambiente natural.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Foram analisadas oito espécies do gênero *Portea*, todas endêmicas do Brasil: *P. alatisepala* Plicox, *P. filifera* L.B.Sm., *P. fosteriana* L.B.Sm., *P. grandiflora* Plicox, *P. nana* Leme & H.Luther*, P. petropolitana* (Wawra) Mez, *P. kermesina* K.Koch e *P. silveirae* Mez (Tabela 1). As coletas foram realizadas em populações naturais da Mata Atlântica, com os exemplares herborizados depositados no Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB). Amostras vivas das mesmas espécies foram estabelecidas em cultivo no Banco de Germoplasma de Bromélias (BGB Bromélias), do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos da Embrapa Mandioca e Fruticultura e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), em Cruz das Almas, Bahia.

Todas as coletas foram conduzidas com respaldo na autorização SISBIO nº 69870-1, e as atividades correlatas estão devidamente protocoladas no SISGEN, conforme autorização A9E9F8D, em conformidade com a legislação brasileira aplicável às espécies nativas.

Tabela 1. Espécies de *Portea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica, incluíndo município de coleta, voucher do Herbário depositado e status de conservação.

Espécie	Status de Ameaça[1]	Município de Coleta	Voucher
P.alatissepala Plicox	Vulnerável	Ilhéus (BA)	HURB 18859
		Urucuca (BA)	HURB 27843
P. filifera L.B.Sm	Não Avaliada	Ilhéus (BA)	HURB 23380
		Igrapiúna (BA)	HURB 32024
P. fosteriana L. B. Sm	Em Perigo	Domingos Martins (ES)	HB 71013
P. grandiflora Plicox	Vulnerável	Igrapiúna (BA)	HURB 30456
		Uruçuca (BA)	HURB 27817
P. kermesina K. Koch	Em Perigo	Ilhéus (BA)	HUEFS 21787
P. nana Leme & H. Luther	Em Perigo	Arataca (BA)	HURB 28733
		Una (BA)	HB 89566
P. petropolitana (Wawra)Mez	Pouco Preocupante	Cruz das Almas (BA)	HURB 6835
P. silveirae Mez	Não Avaliada	Juiz de Fora (MG)	HB 25142

1. Forzza et al. (2025), Brasil (2022), Forzza et al. (2025, atualização contínua).

Morfologia e morfometria dos grãos de pólen e estigma

As anteras foram coletadas em botão floral em pré-antese e fixadas em solução de Karnovsky (1965), composta por glutaraldeído 1%, paraformaldeído 4%, $CaCl_2$ 0,1 M, em tampão cacodilato de sódio 0,2 M (pH 7,2). Após 48 horas, as amostras foram submetidas à desidratação em série crescente de etanol (35% a 100%), por 20 minutos em cada concentração, e posteriormente secas ao ponto crítico com CO_2 líquido (Leica EM CPD 300, Balzers, Alemanha). Os grãos de pólen foram montados em stubs metálicos e metalizados com ouro por 180 segundos (Leica EM ACE 600), sendo as imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (JEOL JSM-IT300 LV, Tokyo, Japão), no NAP/MEPA–ESALQ/USP, operando a 20 kV.

A terminologia para a descrição dos grãos de pólen seguiu Punt et al. (2007) e Halbritter et al. (2018), enquanto a caracterização dos estigmas baseou-se em Brown e Gilmartin (1984, 1989) e Barffus et al. (2016).

Para análise morfométrica, grãos de pólen frescos foram submetidos à técnica de Acetólise Lática Fraca (ACLAC 40) (Raynal e Raynal, 1979), analisados em microscópio óptico Olympus BX51 com câmera digital Olympus DP175. As medições incluíram os diâmetros polar e equatorial (vista equatorial), diâmetros equatoriais maior e menor (vista polar) e espessura da exina, utilizando o software ImageJ 1.53s (Rasband, 1997-2018), com 25 grãos por espécie.

A polaridade dos grãos foi considerada conforme Wanderley e Melhem (1991). A razão entre os diâmetros polar (P) e equatorial (E) foi usada para determinação da forma

polínica (P/E), segundo Erdtman (1952). Para o estigma e estilete, foram medidas três flores de diferentes indivíduos por espécie. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Quantificação dos grãos de pólen

A produção polínica por flor foi estimada por contagem direta em câmara de Neubauer. Três anteras em pré-antese de flores distintas foram colocadas individualmente em tubos de Eppendorf® com 1 mL de ácido lático, maceradas e homogeneizadas em vórtex. A suspensão foi transferida para a câmara e analisada sob microscópio óptico Olympus BX51 com câmera DP175, totalizando 45 unidades contadas por amostra.

Germinação *in vitro* dos grãos de pólen

Anteras de flores do mesmo indivíduo foram alocadas em placas de Petri contendo dois meios de cultura: BK (Brewbaker e Kwack, 1963) e BM (Parton et al., 2002). O meio BK foi preparado com sacarose (10%), ágar (0,8%), ácido bórico (0,01%), $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (0,03%), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,02%) e KNO_3 (0,01%). O meio BM continha sacarose (20%), ágar (0,8%) e ácido bórico (0,01%). As placas foram incubadas por 24 horas em câmara climatizada, seguidas de observação e registro fotográfico em estereomicroscópio Leica EZ4, com câmera acoplada.

Para cálculo da taxa de germinação, foi considerada a proporção de grãos com tubo polínico igual ou superior ao diâmetro do grão. O comprimento dos tubos foi medido em 60 unidades por tratamento (cinco por quadrante), utilizando o software ImageJ. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 3 × 8 (meio de cultura × estádio floral × espécie), com 12 repetições. Os dados de germinação foram transformados pela função arco seno da raiz quadrada ($\sqrt{x}/100$) e submetidos à análise de variância, com comparações por teste de Tukey ($p < 0,01$) e teste F ($p < 0,01$), conforme apropriado, com o auxílio do software R (R Core Team, 2023).

Testes histoquímicos dos grãos de pólen

A viabilidade dos grãos de pólen foi determinada por coloração diferencial com a solução de Alexander (1969) e com diacetato de fluoresceína (FDA) (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1970). Para a primeira técnica, três anteras por estádio floral (pré-antese, antese e pós-antese) foram colocadas em lâminas com três gotas de corante de

Alexander, cobertas com lamínula, e analisadas em microscópio óptico, com base na coloração: grãos viáveis em rosa/magenta e inviáveis incolores ou verdes.

Na segunda técnica, as anteras foram distribuídas em lâminas com uma gota de solução de FDA, cobertas com lamínula e observadas sob microscópio com luz fluorescente. A fluorescência verde ou amarelo-esverdeada foi considerada indicativa de viabilidade, decorrente da hidrólise do FDA por esterases citoplasmáticas ativas.

Receptividade estigmática

A receptividade do estigma foi avaliada por dois métodos complementares: teste com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 3% e coloração com solução de α-naftil-acetato e fast blue B salt (Zeisler, 1993; Pearse, 1972; Dafni, 1992). No primeiro, estigmas de três flores por espécie foram imersos em H_2O_2 por três minutos, observando-se a liberação de bolhas na região receptiva. No segundo método, após filtração do reagente, os estigmas foram mergulhados na solução por 2 a 5 minutos, lavados em água destilada e observados sob microscópio, considerando a coloração roxa intensa ou preta como indicativo de receptividade. A intensidade da resposta foi classificada em graus: (–) ausência de reação; (+) reação positiva fraca; (++) reação positiva forte; (+++) reação positiva muito forte (Dafni e Maués, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfometria dos grãos de pólen

A análise palinológica das oito espécies de *Portea* revelou um padrão morfológico uniforme entre os táxons estudados, caracterizando-se por grãos de pólen dispersos em mônade, heterogêneos em tamanho (médios a grandes), apolares, de âmbito circular e com aberturas pantoporadas, com poros circulares, dispostos de forma esparsa sobre a superfície polínica (Tabela 2 e Figura 1). A exina apresentou-se semitectada, com ornamentação reticulada-heterobrocada e lúmen delimitado por poucos grânulos e de dimensões irregulares, reforçando a estabilidade estrutural desse caráter no gênero (Tabela 2 e Figura 1). Essa uniformidade, já descrita como marcante em Bromelioideae, sugere que os atributos polínicos de *Portea* são conservados e geneticamente estáveis, reforçando sua relevância como marcadores taxonômicos (Silva et al., 2016; Halbritter e Till, 2016; Halbritter, 2016a, 2016b, 2016c, 2016d; 2018). Os resultados obtidos neste estudo estão em consonância com as descrições disponíveis na PalDat, que também apontam para um padrão pantoporado uniforme em diferentes espécies do gênero, com ornamentação reticulada da exina. Embora a base de dados registre pequenas variações

no diâmetro dos grãos e na disposição dos lúmens, essas diferenças se alinham às variações morfométricas aqui observadas, reforçando que a morfologia polínica de *Portea* é conservada, mas apresenta plasticidade quantitativa associada a possíveis adaptações ecológicas (Halbritter e Till, 2016; Halbritter, 2016a, 2016b, 2016c, 2016d; 2018). A presença consistente desse padrão entre todas as espécies analisadas indica que, do ponto de vista palinológico, o gênero apresenta baixa variabilidade morfológica, o que contrasta com a variação morfométrica observada em alguns parâmetros quantitativos (Tabela 2).

Tabela 2. Mensurações dos grãos de pólen de oito espécies de *Portea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica.

Espécie	Diâmetro 1 (µm)			Diâmetro 2 (µm)
P. alatissepala	38,15 ± 2,05			41,70 ± 1,98
P. filifera	27,39 ± 1,08			31,77 ± 0,72
P. fosteriana	44,75 ± 0,21			49,58 ± 0,41
P. grandiflora	40,11 ± 1,47			41,56 ± 1,62
P. kermesina	47,53 ± 0,56			53,85 ± 0,21
P. nana	40,76 ± 1,15			44,95 ± 2,20
P. petropolitana	54,70 ± 0,36			58,88 ± 0,45
P. silverae	34,94 ± 0,98			39,04 ± 0,23
Espécie	Exina (µm)	Teto (µm)	Lumem (µm)	Número de grãos de pólen [3]
P. alatissepala	2,54 ± 0,19	1,34 ± 0,23	3,29 ± 0,57	121,250 ± 15,103 c
P. filifera	1,74 ± 0,13	0,79 ± 0,13	3,03 ± 0,35	91,000 ± 3,780 d
P. fosteriana	2,21 ± 0,12	0,98 ± 0,16	4,10 ± 0,97	117,166 ± 5,132 c
P. grandiflora	2,24 ± 0,23	0,94 ± 0,13	3,99 ± 0,73	138,333 ± 3,664 b
P. kermesina	2,18 ± 0,10	0,96 ± 0,11	4,45 ± 0,58	99,878 ± 1,520 d
P.nana	2,26 ± 0,11	1,14 ± 0,06	2,40 ± 0,25	60,417 ± 1.559 f
P. petropolitana	2,15 ± 0,12	1,01 ± 0,21	4,32 ± 0,57	155,533 ± 6,054 a
P. silverae	2,31 ± 0,10	1,12 ± 0,19	3,61 ± 0,30	75,877 ± 2,550 e

[1]Os grãos de pólen foram submetidos à ACLAC 40 conforme Raynal e Raynal (1979). Os resultados correspondem à média de 25 repetições ± desvio padrão; [2]De acordo com o método descrito por Punt et al. (2007) e Halbritter et al. (2018). [3]Conforme metodologia de Kearns e Inouye (1993).

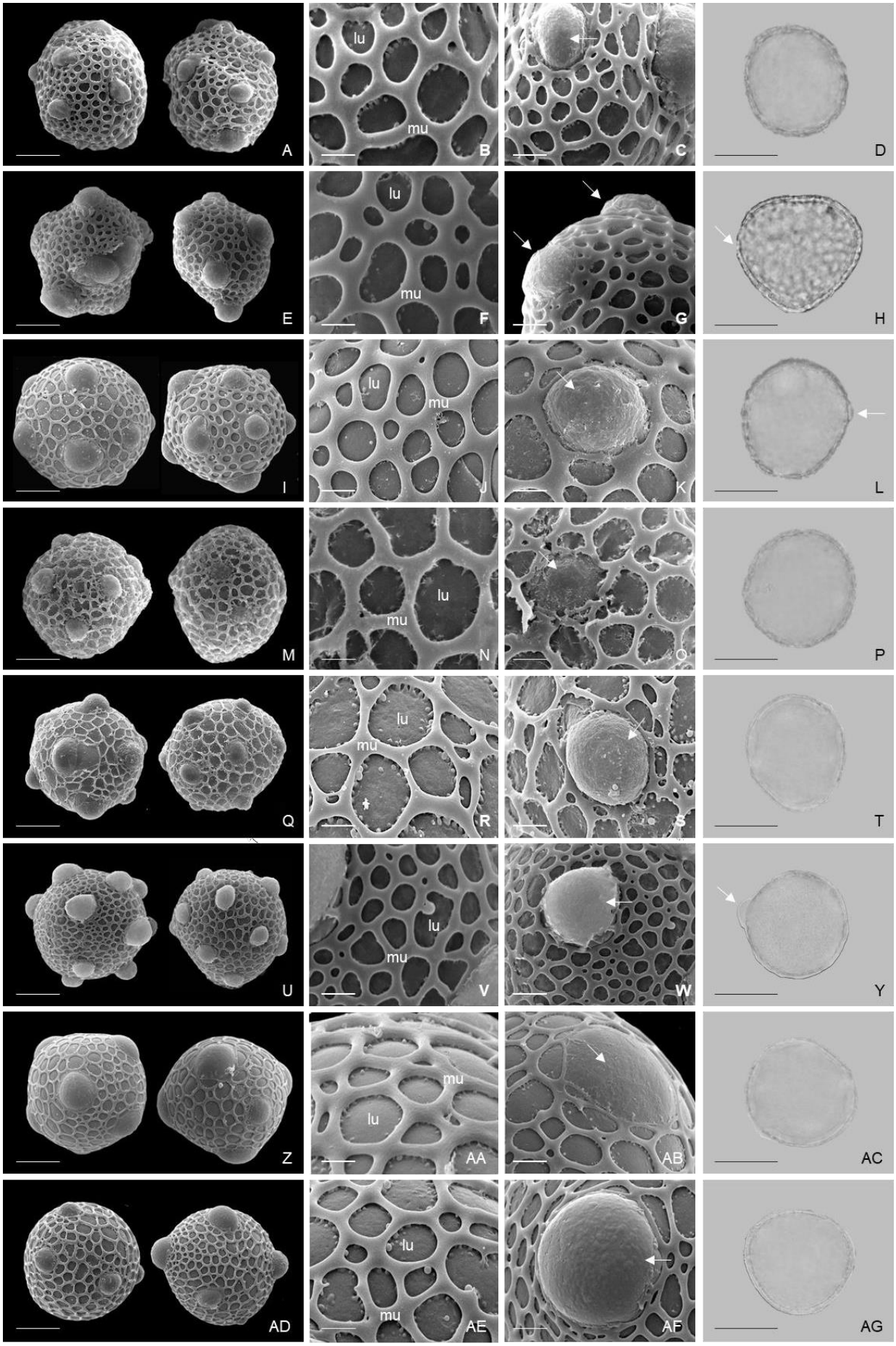

A
lu
mu
B
C
D
E
lu
mu
F
G
H
I
lu
mu
J
K
L
M
lu
mu
N
O
P
Q
lu
mu
R
S
T
U
lu
mu
V
W
Y
Z
mu
lu
AA
AB
AC
AD
lu
mu
AE
AF
AG

Figura 1. Morfologia dos grãos de pólen de *Portea* (Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A-D) *Portea alatissepala*. E-H) *Portea filifera.* I-L) *Portea fosteriana*. M-P) *Portea grandiflora*. Q-T) *Portea kermesina*. U-Y) *Portea nana*. Z-AC) *Portea petropolitana.* AD-AG *Portea silverae.* A, E, I, M, Q, U, Z, AD) Vista geral do grão de pólen obtido por microscopia eletrônica de varredura (MEV). B, F, J, N, R, V, AA,AE) Detalhe da ornamentação da exina em MEV. C, G, K, O, S, W, AB, AF) Detalhe da abertura dos grãos de pólen em MEV. D, H, l, P, T, Y, AC, AG) Grãos de pólen após acetólise lática. Barras: A, E, I, M, Q, U, Z, AD = 10 µm; B, F, J, N, R, V, AA, AE = 2 µm; C, G, K, O, S, W, AB, AF = 5 µm; D, H, l, P, T, Y, AC, AG = 50 µm.

Descrições mais detalhadas obtidas por Silva et al. (2016) para *P. petropolitana* complementam esses achados, caracterizando os grãos como heterogêneos em tamanho, de contorno circular, apolares e predominantemente 7-(9)-pantoporados. Os poros, circulares e operculados, distribuem-se de forma esparsa sobre a superfície polínica. A exina é semitectada, com ornamentação reticulada, lúmens arredondados e irregulares em tamanho. Essa descrição confirma que, embora *Portea* mantenha um padrão diagnóstico de grãos de pólen pantoporado, há nuances microestruturais relevantes que enriquecem sua caracterização e reforçam sua singularidade em relação a outros gêneros de Bromelioideae (Smith e Downs, 1979; Halbritter, 1992; Silva et al., 2016).

No que se refere à dimensão dos grãos, observou-se predominância de grãos de pólen de tamanho médio, com exceção de *P. kermesina* e *P. petropolitana*, que apresentaram grãos de pólen de tamanho grande, com diâmetros superiores a 51 µm (Tabela 2 e Figura 1Q-T e 1Z-AC). Essa diferença pode refletir adaptações reprodutivas associadas a pressões ambientais locais ou estratégias específicas de polinização, como já observado em outros gêneros de Bromeliaceae (Souza et al., 2017b; Nascimento et al., 2025b, Mota et al., 2024).

A espessura da exina também variou entre as espécies, sendo mínima em *P. filifera* (1,74 ± 0,13 µm) e máxima em *P. alatissepala* (2,54 ± 0,19 µm) (Tabela 2). Essa variação, embora sutil, é relevante, pois a espessura da exina e a organização de seus elementos estruturais (teto e lúmen) estão diretamente relacionadas à resistência mecânica e à tolerância à dessecação dos grãos de pólen, características cruciais para o sucesso reprodutivo das espécies em ambientes sujeitos a variações de umidade, como a Mata Atlântica (Edlund et al., 2004; Souza et al., 2015) e principalmente na

conservação de germoplasma quando se pretende criopreservar os grãos (Souza et al., 2015). A variação na largura do lúmen, de 2,40 ± 0,25 µm em *P. nana* a 4,45 ± 0,58 µm em *P. kermesina*, pode refletir diferenças adaptativas relacionadas à eficiência na resposta à dessecação. Estudos mostram que o formato, tamanho e elasticidade das aberturas polínicas, especialmente lúmens, influenciam o *infolding* do grão durante a perda de água, afetando sua proteção e viabilidade (Božič e Siber, 2020).

Os dados de morfometria mostraram que *P. petropolitana* apresentou o maior número de grãos por flor (155.533 ± 6.054), enquanto *P. nana* exibiu a menor média (60.417 ± 1.559), sugerindo diferentes investimentos reprodutivos entre as espécies (Tabela 2). Essa discrepância pode estar associada a estratégias distintas de reprodução e dispersão, possivelmente ligadas à disponibilidade de polinizadores em seus habitats, além do tamanho da flor. De fato, estudos comparativos demonstram que o número médio de grãos de pólen por flor tende a aumentar com o tamanho do arranjo floral (*floral display size*), reforçando a hipótese de que espécies com flores maiores investem proporcionalmente mais em produção polínica como forma de maximizar o sucesso reprodutivo (Cunha e Aizen, 2023).

A presença de grãos pantoporados também foi relatada em espécies de *Aechmea* do Nordeste do Brasil associadas ao complexo *Gravisia* (Read e Luther, 1991). Essa proximidade morfológica já havia sido sugerida por Mez (1891–1935) com base em afinidades estruturais, e análises cladísticas posteriores de Faria et al. (2004) reforçaram essa relação, agrupando *Portea* em um clado próximo a *Aechmea* e *Quesnelia*. Nesse sentido, os resultados palinológicos corroboram a afinidade evolutiva de *Portea* dentro de Bromelioideae, ainda que a confirmação da monofilia do gênero dependa de maior amostragem em estudos filogenéticos moleculares.

Por fim, é importante destacar que, apesar da baixa variabilidade morfológica, as diferenças quantitativas encontradas na morfometria dos grãos de pólen de *Portea* podem constituir indicadores de adaptações ecológicas. Tais diferenças, quando interpretadas em conjunto com dados filogenéticos e comparações intergenéricas, contribuem para uma visão mais integrada da biologia reprodutiva do grupo e reforçam a importância dos grãos de pólen como ferramenta para estudos de sistemática, taxonomia e conservação de Bromeliaceae, especialmente em biomas ameaçados como a Mata Atlântica.

Morfometria do estigma

As análises morfológicas realizadas em espécies do gênero *Portea* revelaram a ocorrência de dois tipos de estigmas: o conduplicado-espiral, predominante na maioria das espécies do gênero (Figura 2A-J), e o conduplicado-patente, exclusivo de *P. filifera* (Tabela 3). Nos estigmas do tipo conduplicado-espiral, os três lobos estigmáticos derivados dos carpelos encontram-se retorcidos, de modo que suas margens constituem a superfície receptiva (Figura 2A-J). Já no tipo conduplicado-patente, característico de *P. filifera*, os lobos estigmáticos se encontram mais abertos e estendidos, configurando uma arquitetura distinta daquela observada nas demais espécies (Figura 2B, 2F). Em ambos os casos, as margens são inteiras e a superfície estigmática apresenta acúmulo de exsudato antes, durante e após a antese, o que confere aspecto translúcido e húmido. O franjeado visível em alguns estádios é formado por papilas que facilitam a aderência dos grãos de pólen, assegurando maior área de contato e fixação inicial do grão, o que favorece a germinação (Heslop-Harrison e Shivanna, 1977; Brown e Gilmartin, 1989; Souza et al., 2016).

Os caracteres morfométricos avaliados apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as espécies ($p \leq 0,01$; teste Scott-Knott), confirmando que as variações detectadas não são meramente qualitativas, mas quantitativas e funcionalmente relevantes. O maior comprimento e diâmetro do estigma foram registrados em *P. filifera* (3,98 ± 0,14 mm e 3,82 ± 0,04 mm, respectivamente), em contraste com *P. alatissepala*, que apresentou os menores valores (1,63 ± 0,07 mm e 1,76 ± 0,03 mm) (Tabela 3). Em relação ao estilete, espécies como *P. grandiflora* (36,05 ± 3,09 mm), *P. quermesina* (35,12 ± 2,87 mm), *P. petropolitana* (34,15 ± 3,21 mm) e *P. fosteriana* (33,20 ± 2,72 mm) apresentaram os maiores comprimentos, ao passo que *P. filifera* exibiu o menor valor (7,23 ± 0,49 mm), caracterizando-se por um estilete marcadamente curto (Tabela 3). O diâmetro do estilete também variou significativamente, sendo mais elevado em *P. filifera* (0,86 ± 0,05 mm) e mais reduzido em *P. nana* (0,47 ± 0,03 mm) (Tabela 3). As papilas estigmáticas tubulares (fimbriadas) mostraram ampla variabilidade, com valores mais elevados em *P. grandiflora* (125,7 ± 14,75 µm) e *P. nana* (124,4 ± 15,71 µm), e ausência em *P. filifera* (Tabela 3). Esses resultados reforçam a existência de dois perfis morfológicos contrastantes dentro do gênero: um padrão majoritário, caracterizado por estigmas conduplicado-espiral, lilases, subglobosos, papilas longas e estiletes delgados e compridos, e o perfil de

P. filifera, definido por estigma volumoso, patente, verde, associado a estilete curto e espesso e ausência de papilas.

As particularidades morfológicas em *P. filifera* pode indicar uma inconsistência na sua atual taxonomia, sugerindo uma possibilidade de reclassificação, a qual requer validação por meio de estudos morfológicos e moleculares subsequentes, uma vez que até a morfologia da flor é bem diferente das demais espécies. Além disso, a relevância de caráter estigmático em diagnósticos taxonômicos tem sido destacada em estudos recentes, tanto com base em morfologia quanto em filogenia, reforçando que estruturas como o tipo de estigma podem refletir linhagens evolutivas distintas (Barfuss et al., 2016; Souza et al., 2016; Couto et al., 2022).

A terminologia utilizada para designar os tipos de estigma, conduplicado-espiral e conduplicado-patente, está em conformidade com descrições na literatura especializada e reconhecidas como variações válidas dentro da diversidade de formas estigmáticas em Bromeliaceae (Varadarajan e Brown, 1988; Brown e Gilmartin, 1989; Barfuss et al., 2016; Souza et al., 2016).

A presença de estigmas húmidos em todas as espécies avaliadas reforça sua importância funcional na reprodução. Estigmas húmidos são caracterizados pela secreção de exsudato estigmático rico em açúcares, lipídios, proteínas e moléculas sinalizadoras, entre as quais espécies reativas de oxigênio, que participam do processo de germinação e direcionamento dos tubos polínicos (Hiscock e Allen, 2008; Chapman e Goring, 2010; Souza et al., 2016). Esse exsudato atua em múltiplos níveis: facilita a adesão e hidratação dos grãos de pólen, promove a germinação e constitui um microambiente bioquimicamente ativo, fundamental para a interação pólen-estigma (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1985). Em Bromeliaceae, diferentes estudos têm demonstrado variações na receptividade estigmática ao longo do desenvolvimento floral. Pesquisadores trabalhando com *Tillandsia* (Souza et al., 2020), *Wittmackia* (Nascimento et al., 2025a), *Hohenbergia* (Silva et al., 2024) e espécies de *Aechmea*, *Ananas* e *Vriesea* (Souza et al., 2016) verificaram que os estigmas dessas espécies são húmidos, apresentando maior receptividade durante o estádio de antese. No entanto, algumas espécies revelaram um padrão diferenciado, mantendo a capacidade receptiva além da antese e prolongando-a até a fase de pós-antese. Esse comportamento sugere uma plasticidade reprodutiva dentro do grupo, possivelmente associada a estratégias adaptativas que favorecem a eficiência da polinização em diferentes contextos ecológicos. As variações detectadas no comprimento e diâmetro dos estigmas e

estiletes, bem como no desenvolvimento ou ausência de papilas estigmáticas, possuem implicações diretas na polinização e na compatibilidade reprodutiva entre espécies (Souza et al., 2017b; Nascimento et al., 2025b; Silva et al., 2025). Espécies com papilas longas e abundante exsudato, como *P. grandiflora* e *P. nana*, tendem a dispor de maior superfície funcional de contato e potencialmente maior eficiência na adesão e germinação dos grãos de pólen. Já *P. filifera*, com ausência de papilas e estigma morfologicamente distinto, pode depender de mecanismos alternativos relacionados à composição química do exsudato ou à modificação de estruturas cuticulares para assegurar a receptividade. Nesse sentido, diferenças morfométricas e estruturais como as aqui observadas são biologicamente determinantes, influenciando a eficiência na reprodução, a cruzabilidade interespecífica e, consequentemente, a dinâmica evolutiva do gênero *Portea*.

Assim, a análise do estigma e estilete em *Portea* evidencia que a diversidade observada configura um espectro de adaptações reprodutivas com forte impacto na biologia da polinização e na evolução do grupo. Os dados aqui apresentados não apenas confirmam a singularidade de *P. filifera*, como também ressaltam a necessidade de investigações adicionais, integrando estudos anatômicos detalhados, análises histoquímicas e abordagens filogenéticas para compreender a evolução da diversidade estigmática em Bromeliaceae.

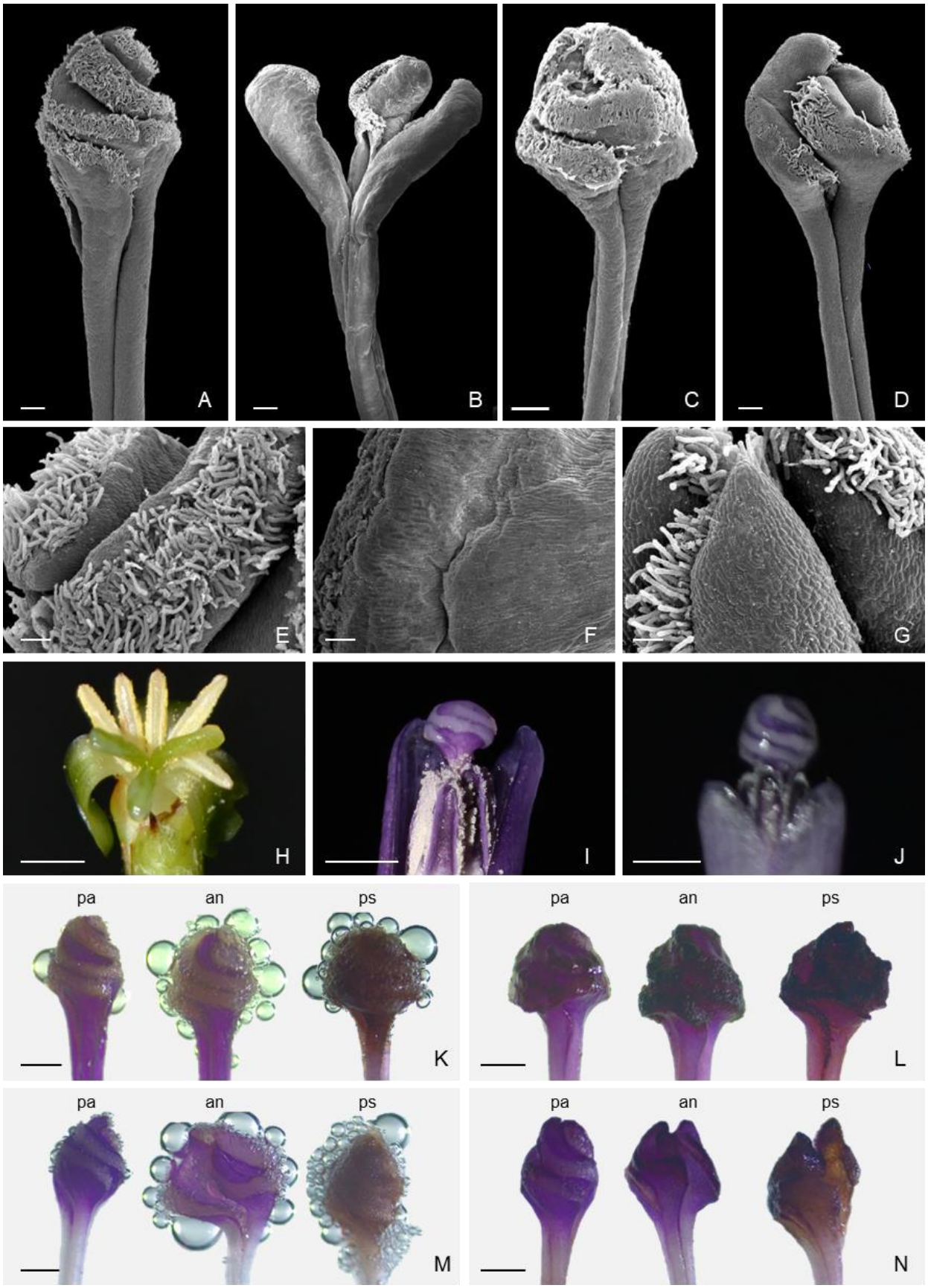


Figura 2. Morfologia e receptividade dos estigmas de *Portea* (Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A-G) Morfologia do estigma do tipo

conduplicado-espiral e conduplicado patente com papillas tubulares no gênero *Portea* endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A, E) *Portea alatissepala.* B, F) *Portea filifera.* C, G) *Portea grandiflora. D) Portea nana.* H-J) Ápices florais exemplificando as colorações dos estigmas. H) *Portea filifera*. I) *Portea alatissepala*. J) *Portea nana.* K-N) Receptividade do estigma com solução α-naftil-acetato + fast blue B salt (L, N) e com peróxido de hidrogênio (K, M). K) *Portea alatissepala* evidenciando resposta positiva fraca (+) na pré antese e muito forte (+++) na antese e pós-antese com peróxido de hidrogênio durante os três estádios de desenvolvimento floral. L) *Portea alatissepala* evidenciando resposta positiva fraca (+) na pré antese e muito forte (+++) na antese e pós-antese com α-naftil-acetato + fast blue B salt durante os três estádios de desenvolvimento floral. M) *Portea grandiflora* evidenciando resposta positiva fraca (+) na pré antese e muito forte (+++) na antese e pós-antese com peróxido de hidrogênio durante os três estádios de desenvolvimento floral. N) *Portea grandiflora* evidenciando resposta positiva fraca (+) na pré antese e muito forte (+++) na antese e pós-antese com α-naftil-acetato + fast blue B salt durante os três estádios de desenvolvimento floral. pa = pré-antese, an = antese, po = pós-antese. Barras: A-D = 500 µm; E-G = 100 µm; K-N = 1 mm.

Tabela 3. Caracteres morfológicos do estigma e estilete de oito espécies de *Portea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica.

Espécies	Tipo	Coloração	Estigma (mm)		Estilete (mm)		Comprimento das papilas (µm)
			Comprimento	Diâmetro	Comprimento	Diâmetro	
P. alatissepala	Conduplicado-espiral	Lilás	1,63 ± 0,07 c	1,76 ± 0,03 c	26,61 ± 0,61 b	0,56 ± 0,03 c	88,72 ± 4,44 b
P. filifera	Conduplicado-patente	Verde	3,98 ± 0,14 a	3,82 ± 0,04 a	7,23 ± 0,49 d	0,86 ± 0,05 a	Ausente
P. fosteriana	Conduplicado-espiral	Lilás	1,72 ± 0,17 c	1,68 ± 0,07 c	33,20 ± 2,72 a	0,67 ± 0,13 b	120,15 ± 13,15 a
P. grandiflora	Conduplicado-espiral	Lilás	1,98 ± 0,10 b	1,95 ± 0,02 b	36,05 ± 3,09 a	0,61 ± 0,01 c	125,7 ± 14,75 a
P. nana	Conduplicado-espiral	Lilás	1,77 ± 0,05 c	1,58 ± 0,03 c	19,38 ± 0,67 c	0,47 ± 0,03 d	124,4 ± 15,71 a
P. petropolitana	Conduplicado-espiral	Lilás	2,12 ± 0,15 b	1,87 ± 0,10 b	34,15 ± 3,21 a	0,62 ± 0,15	118,13 ± 14,12 a
P. quermesina	Conduplicado-espiral	Lilás	1,78 ± 0,13 c	1,72 ± 0,13 c	35,12 ± 2,87 a	0,58 ± 0,11 c	98,80 ± 18,11 b
P. silverae	Conduplicado-espiral	Lilás	1,82 ± 0,17 c	1,65 ± 0,16 c	31,18 ± 3,18	0,71 ± 0,12 b	116,30 ± 21,11 a
CV (%)			8,58	6,55	12,58	9,21	28,15

Médias seguidas da mesma letra não diferiram pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,01$),

Germinação *in vitro* dos grãos de pólen

A análise estatística evidenciou uma interação tripla significativa entre as oito espécies de *Portea* ($p \leq 0,01$; teste Scott-Knott), os estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese) ($p \leq 0,01$; teste Tukey) e os dois meios de cultura (BM e SM) ($p \leq 0,01$; teste F) (Tabela 4 e Figura 3A-F). Essa interação demonstra que a germinação polínica e o crescimento do tubo não podem ser explicados por um único fator isolado, mas resultam da combinação entre características próprias de cada espécie, o estádio fisiológico do grão de pólen e a disponibilidade de nutrientes no meio de cultura. Esse achado é de grande relevância para estudos de biologia reprodutiva, pois reflete a complexidade dos mecanismos que garantem a fertilização em Bromeliaceae.

De maneira geral, os maiores percentuais de germinação dos grãos de pólen ocorreram no estádio de antese, independentemente da espécie e do meio de cultura, confirmando como o ponto de máxima maturidade fisiológica dos grãos de pólen (Tabela 4). *Portea grandiflora* destacou-se como a espécie com maior eficiência germinativa, apresentando valores superiores a 90% em ambos os meios (92,74% no BM e 92,13% no SM) (Tabela 4 e Figura 3E). Esse desempenho sugere não apenas elevada viabilidade polínica intrínseca da espécie, mas também uma plasticidade fisiológica que lhe permite responder de forma equilibrada a diferentes condições nutricionais. Em contraste, espécies como *P. fosteriana* e *P. filifera* apresentaram forte dependência do meio de cultura. Em *P. fosteriana*, a germinação em meio de cultura BM foi de apenas 26,32% na antese, contra 83,42% no meio de cultura SM. Já *P. filifera*, com valores extremamente baixos na pré (11,37%) e pós-antese (16,18%) em meio de cultura BM, alcançou 77,18% na antese em SM, evidenciando que, para algumas espécies, o meio BM não oferece os nutrientes adequados à ativação metabólica e à hidratação dos grãos para a germinação (Tabela 4 e Figura 3C-D).

O comportamento de *P. nana* também merece destaque, pois apesar dos baixos índices de germinação no meio de cultura BM (15,37% na pré-antese e 12,25% na pós-antese), no meio SM a espécie atingiu 80,30% na antese, valor comparável aos melhores desempenhos entre todas as espécies (Tabela 4 e Figura 3F). Essa diferença indica que a espécie depende fortemente de condições exógenas favoráveis para expressar seu potencial germinativo, sendo possivelmente mais sensível a variações nutricionais e ambientais. Por outro lado, espécies como *P. silverae* e *P. alatissepala* mostraram maior estabilidade, variando de 67,52% a 82,71% entre os meios e estádios de

desenvolvimento, o que sugere maior robustez fisiológica frente a diferentes condições de cultivo (Tabela 4 e Figura 3A-B).

Tabela 4. Porcentagem de germinação *in vitro* e comprimento do tubo polínico de 8 espécies de *Portea* Bronhn & K.koch (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil, ocorrentes na Mata Atlântica e avaliada em dois meios de cultura (BM e SM) e três estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese).

Espécie	Meio de Cultura	Pré-antese	Antese	Pós-antese
		Germinação (%)		
P. alatissepala	BM	72,25 bB	80,71 bA	67,52 bC
	SM	76,66 aB	81,58 cA	72,82 aC
P. filifera	BM	11,37 gC	23,81 cA	16,18 dB
	SM	71,38 cB	77,18 dA	67,43 bC
P. fosteriana	BM	19,82 eB	26,32 cA	16,78 dB
	SM	74,26 bB	83,42 cA	41,79 eC
P. grandiflora	BM	87,93 aB	92,74 aA	73,41 aC
	SM	77,63 aB	92,13 aA	72,71 aC
P. kermesina	BM	28,02 dB	34,69 cA	16,78 dC
	SM	66,54 dB	78,23 dA	25,98 fC
P. nana	BM	15,37 fB	78,70 bA	12,25 eB
	SM	12,14 eC	80,30 cA	20,50 gB
P. petropolitana	BM	18,00 eB	24,77 cE	14,58 eC
	SM	70,96 cB	88,92 bA	62,58 cA
P. silverae	BM	69,17 cB	79,18 bA	53,23 cC
	SM	72,93 bB	82,71 cA	54,42 dC
CV%			6,34	
P. alatissepala	BM	0,68 aB	0,86 aA	0,52 aC
	SM	0,97 aB	1,18 aA	0,95 aB
P. filifera	BM	0,14 dB	0,22 dA	0,20 cB
	SM	0,82 bB	0,95 bA	0,81 bB
P. fosteriana	BM	0,12 dB	0,17 dA	0,14 cB
	SM	0,81 bB	1,11 aA	0,68 cC
P. grandiflora	BM	0,46 bB	0,52 bA	0,47 bB
	SM	0,68 eB	1,21 aA	0,75 cB
P. kermesina	BM	0,22 dB	0,31 cA	0,18 cB
	SM	0,77 cB	0.86 cA	0,41 eC
P. nana	BM	0,28 cB	0,85 aA	0,18 cV
	SM	0,59 fB	1,08 bA	0,62 dB
P. petropolitana	BM	0,16 dB	0,18 dA	0,16 cB
	SM	0,68 eB	0,98 bA	0,71 cB
P. silverae	BM	0,28 cB	0,48 bA	0,23 cB
	SM	0,72 dB	1,01 bA	0,68 cB
CV%			5,48	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro do mesmo fator, não diferem entre si pelo teste de F e Tukey (p≤ 0,01), respectivamente. Meios de cultura: BM (Parton et al., 2002). SM (Soares et al., 2008).

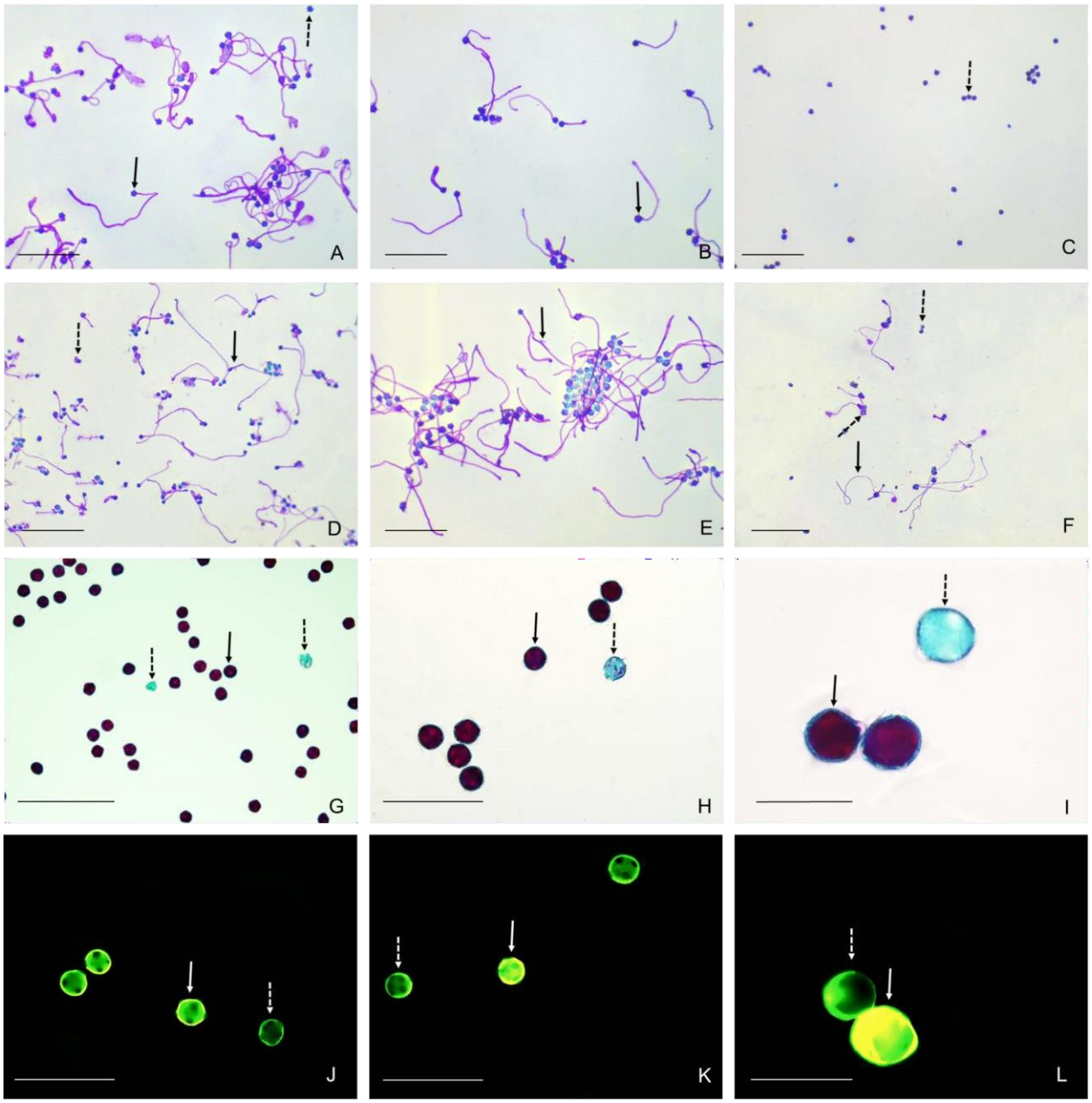


Figura 3. Viabilidade dos grãos de pólen de *Portea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil e ocorrentes na Mata Atlântica. A-F) Germinação de pólen *in vitro* em meios de cultura BM (Parton et al., 2002) e meios de cultura SM (Soares et al., 2008). G-L) Testes histoquímicos evidenciando grãos de pólen viáveis (seta contínua) e inviáveis (seta tracejada). G-I) Solução de Alexander 2%. J-L) Diacetato de fluoresceína. A) Germinação dos grãos de pólen de *P. alatissepala* evidenciando alta viabilidade na pré antese em meio SM. B) Germinação dos grãos de pólen de *P. alatissepala* evidenciando alta viabilidade na antese em meio BM. C) Germinação de grãos de pólen de *P. filifera* evidenciando baixa viabilidade na pré-antese em meio BM. D) Germinação dos grãos de pólen de *P. filifera* evidenciando alta viabilidade na antese em meio SM. E)

Germinação dos grãos de pólen de *P. grandiflora* evidenciando alta viabilidade na antese em meio SM. F) Germinação dos grãos de pólen de *P. nana* evidenciando alta vialibildade na antese em meio BM. G) Teste de Alexander com grãos de pólen de *P. alatissepala* evidenciando alta viabilidade na pré-antese. H) Teste de Alexander com grãos de pólen de *P. grandiflora* exibindo alta viabilidade na antese. I) Teste de Alexander com grãos de pólen de *P. grandiflora* evidenciando grãos de pólen viáveis e inviáveis na pós-antese. J) Teste com diacetato de fluoresceína (FDA) de *P. alatissepala* evidenciando grãos viáveis e inviáveis na pré-antese. K) Teste com FDA de *P. alatissepala* evidenciando grãos viáveis e inviáveis na antese. L) Teste com FDA evidenciando grãos de pólen viáveis e inviáveis de *P. filifera* na pós-antese. Barras: A-F = 0,5 mm; G = 500 µm; H = 200 µm; I = 100 µm; J, K = 200 µm; L = 100 µm.

Quanto ao crescimento do tubo polínico, o padrão observado foi semelhante ao da germinação, com o meio de cultura SM promovendo valores mais altos em praticamente todos os casos (Tabela 4). O maior comprimento do tubo polínico foi observado em *P. grandiflora* na antese (1,21 ± 0,02 mm), seguido por *P. nana* no mesmo estádio (1,08 ± 0,02 mm) (Tabela 4 e Figura 3E-F). Em contraste, os menores comprimentos ocorreram em *P. fosteriana* na pré-antese em meio de cultura BM (0,12 ± 0,01 mm) e em *P. petropolitana* (0,16 ± 0,01 mm), indicando que nesses estádios precoces os grãos de pólen ainda não haviam completado o processo de maturação (Tabela 4). O desempenho expressivo no SM pode estar relacionado à sua formulação enriquecida com diferentes sais, que favorece tanto a germinação quanto a elongação celular por disponibilizar fontes de carbono, reguladores osmóticos e íons essenciais (Soares et al., 2008).

A sincronização entre a alta porcentagem de germinação e o alongamento do tubo polínico durante a antese é um fator determinante para o sucesso reprodutivo, pois garante que os tubos atinjam rapidamente o estigma receptivo e iniciem a fertilização (Souza et al., 2017b; Mota et al., 2023). Estudos indicam que a germinação *in vitro* está sujeita não apenas ao conteúdo endógeno dos grãos de pólen, mas também à disponibilidade de nutrientes e à condição fisiológica da planta-mãe no momento da coleta (Taylor e Hepler, 1997; Souza et al., 2008; Souza et al., 2017a). Dessa forma, a maior eficiência do SM em comparação ao BM reforça que a composição do meio exerce influência direta sobre o metabolismo polínico, aumentando a atividade enzimática, a turgescência e a velocidade de crescimento celular (Parton et al., 2002; Soares et al.,

2008; Souza et al., 2017a).

Do ponto de vista reprodutivo, a coincidência entre a antese, estádio em que os grãos de pólen exibem maior germinação e tubos mais longos, e a fase de máxima receptividade estigmática, observada neste estudo, revela uma sincronização altamente adaptativa. Essa simultaneidade entre grãos de pólen viável e estigma receptivo é um mecanismo chave para maximizar o sucesso da fecundação, aumentar as taxas de polinização cruzada e reduzir as chances de autofecundação, favorecendo a variabilidade genética (Dresselhaus e Franklin-Tong, 2013; Jany et al., 2019). Em ambientes naturais, tal sincronia aumenta a eficiência das interações com polinizadores, enquanto em cruzamentos artificiais fornece um guia preciso para a escolha do momento mais adequado para a realização das polinizações manuais (Silva et al., 2025).

Sob a perspectiva aplicada, esses resultados têm implicações diretas em programas de melhoramento genético e conservação. Espécies como *P. grandiflora* e *P. nana*, que apresentaram alta porcentagem de germinação e crescimento do tubo polínico no meio de cultura SM durante a antese, mostram elevado potencial para cruzamentos controlados e conservação de germoplasma, a exemplo de criopreservação de grãos de pólen. Por outro lado, espécies como *P. fosteriana* e *P. filifera*, que apresentaram dependência marcante da composição do meio de cultura, exigem protocolos específicos de cultivo e condições otimizadas para que seu potencial reprodutivo seja explorado da melhor forma. Além disso, o conhecimento sobre a interação tripla entre espécie, estádio de desenvolvimento floral e meio de cultura fornece subsídios importantes para protocolos de criopreservação e conservação ex situ, nos quais a manutenção da viabilidade polínica é um fator crucial para garantir a perpetuação e a utilização futura desses recursos genéticos (Souza et al., 2015).

Em síntese, os resultados demonstram que a viabilidade polínica em *Portea* é altamente dependente do contexto fisiológico da espécie, desenvolvimento flora e meio de cultura. A maior germinação e o maior crescimento do tubo polínico durante a antese, especialmente em meio SM, evidenciam não apenas o ponto ótimo para a fecundação, mas também a complexa rede de fatores que regulam a reprodução sexual nessas espécies. Ao mesmo tempo, a variação interespecífica observada reforça a necessidade de abordagens diferenciadas para cada táxon, tanto em estudos ecológicos quanto em estratégias de melhoramento e conservação.

Testes histoquímicos dos grãos de pólen

As análises estatísticas não indicaram interação tripla, mas sim uma interação dupla significativa entre as espécies de *Portea* ($p \leq 0,01$; teste Scott-Knott), revelando que a viabilidade polínica variou de acordo com as diferentes espécies e o estádio de desenvolvimento flora (pré-antese, antese e pós-antese) ($p \leq 0,01$; teste Tukey) (Tabela 5 e Figura 3G-L). A antese destacou-se como o período de maior viabilidade, com todas as espécies apresentando percentuais elevados de grãos viáveis. O melhor desempenho foi registrado em *P. grandiflora*, que atingiu 96,76% no teste de Alexander e 95,98% no FDA, confirmando o pico de viabilidade polínica nesse estádio (Tabela 5 e Figura 3H). Em contrapartida, os menores valores ocorreram na pré-antese, em especial em *P. nana*, que apresentou apenas 24,67% e 19,47% de viabilidade com Alexander e FDA, respectivamente (Tabela 5). Essa mesma espécie também manteve porcentagens de viabilidade reduzidos na pós-antese (22,00% e 22,60%), ao longo do ciclo floral. Tendência semelhante foi observada em *P. kermesina*, que registrou 34,90% com Alexander e 27,33% com FDA na pós-antese (Tabela 5). Apesar dessas diferenças entre espécies e estádios de desenvolvimento, não houve interação significativa entre os testes histoquímicos utilizados: ambos apresentaram comportamento semelhante, com resultados consistentes, ainda que em diversas espécies o corante de Alexander tenha proporcionado valores ligeiramente superiores.

De forma geral, as espécies apresentaram alta viabilidade durante a antese, confirmando esse estádio como o ponto ideal de sua capacidade reprodutiva. *Portea petropolitana* alcançou 89,33% no teste de Alexander e 85,33% no FDA, enquanto *P. fosteriana* apresentou 84,97% e 88,17%, respectivamente (Tabela 5). Até mesmo espécies com menor desempenho na pré e pós-antese, como *P. alatissepala* e *P. filifera*, atingiram valores acima de 78% na antese (Tabela 5 e Figura 3J, L). Esses resultados indicam que, independentemente da espécie, a antese concentrou o maior percentual de viabilidade, o que garante maiores chances de sucesso reprodutivo natural ou em cruzamentos controlados.

Tabela 5. Histoquímica dos grãos de pólen de oito espécies de *Portea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil, ocorrentes na Mata Atlântica e avaliada em duas metodologias (Alexander e diacetato de fluoresceína - FDA) e três estádios de desenvolvimento floral (pré-antese, antese e pós-antese).

Espécie	Pré-antese	Antese	Pós-antese
		Alexander	
P. alatissepala	77,47 bA	80,22 cA	69,09 bB
P. filifera	74,52bAB	78,63 cA	70,00 bB
P. fosteriana	75,33 bB	84,97 bA	47,83 dC
P. grandiflora	85,88 aB	96,76 aA	85,11 aB
P. kermesina	68,83 bB	80,17 cA	34,90 eC
P. nana	24,67 cB	79,71 cA	22,00 fB
P. petropolitana	75,90 bB	89,33 bA	71,33 bB
P. silverae	73,93 bB	85,10 bA	55,17 cC
		Diacetato de fluoresceína - FDA	
P. alatissepala	79,77 bA	81,24 bA	74,50 bB
P. filifera	75,91 bA	77,82 cA	70,95 bB
P. fosteriana	73,60 cB	88,17 bA	43,27 dC
P. grandiflora	86,27 aB	95,98 aA	83,62 aC
P. kermesina	66,83 dB	77,67 cA	27,33 eC
P. nana	19,47 eB	79,03 cA	22,60 eB
P. petropolitana	71,83 cB	85,33 bA	67,80 bC
P. silverae	75,23 bB	86,67 bA	51,57 cC
CV%		5,48	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro do mesmo fator, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott e Tukey ($p \leq 0,01$), respectivamente

Quanto às metodologias, ambas se mostraram eficientes e confiáveis, mas com diferenças sutis. O corante de Alexander, por utilizar uma solução tripla capaz de distinguir grãos viáveis (núcleo púrpura pela fucsina) e inviáveis (coloração esverdeada), apresentou vantagem em termos de acurácia (Alexander 1969, 1980). Essa propriedade é relevante porque evita a classificação equivocada de grãos inviáveis como viáveis, um problema que pode ocorrer em reagentes que não coram grãos inviáveis, sobretudo quando a exina é espessa ou recoberta por mucilagem, dificultando a penetração do corante (Alexander, 1969). O FDA, por sua vez, avalia a também a integridade das membranas por meio da atividade enzimática, tornando-se um marcador fisiológico direto de viabilidade celular (Heslop-Harrison e Heslop-Harrison, 1970). Essa diferença explica por que alguns valores foram ligeiramente inferiores no FDA, sem comprometer, no entanto, a consistência entre os testes.

A queda nos percentuais de viabilidade durante a pós-antese pode ser atribuída a fatores morfológicos e fisiológicos das espécies (Souza et al., 2016; Nascimento et al., 2025a). Em espécies de *Portea*, os grãos de pólen apresentam morfologia pantoporada, caracterizada por múltiplos poros distribuídos uniformemente na exina. Embora essa característica favoreça a germinação em condições ideais, aumenta também a vulnerabilidade à perda hídrica. Como já discutido em modelos teóricos, grãos com maior número de aberturas apresentam menor capacidade de limitar a desidratação, o que acelera a perda de água durante a exposição ao ambiente (Božič e Šiber, 2020). Assim, após a antese, quando os grãos permanecem mais tempo expostos, ocorre maior risco de colapso das membranas celulares, resultando na queda acentuada da viabilidade observada em espécies como *P. nana*, *P. kermesina* e *P. silverae*.

Esses resultados possuem importantes implicações reprodutivas. A elevada viabilidade registrada na antese coincide com o período de máxima receptividade estigmática e com os maiores percentuais de germinação *in vitro* e crescimento do tubo polínico, confirmando uma sincronização adaptativa entre os grãos de pólen e estigma. Essa sincronia aumenta as chances de polinização cruzada, favorece a variabilidade genética e reduz a probabilidade de depressão endogâmica (Arenas-de-Souza et al., 2016). Em ambientes naturais, o alinhamento entre a disponibilidade de grãos de pólen viáveis e a atividade dos polinizadores maximiza o sucesso da fecundação, enquanto em condições controladas fornece subsídios para a definição do momento ideal de cruzamentos manuais (Bastos et al., 2017; Deprá e Gaglianone, 2018).

Além disso, a variação interespecífica observada sugere diferentes estratégias reprodutivas dentro do gênero. Espécies como *P. grandiflora* e *P. petropolitana* demonstraram maior eficácia reprodutiva, mantendo valores altos mesmo em pós-antese, enquanto *P. nana* e *P. kermesina* se mostraram mais sensíveis à desidratação e à senescência. Esse conhecimento é essencial para orientar programas de conservação e melhoramento genético, indicando quais espécies oferecem maior flexibilidade para cruzamentos interespecíficos e quais requerem maior controle experimental.

Assim, os testes histoquímicos não apenas confirmaram o elevado potencial reprodutivo das espécies de *Portea* na antese, mas também ressaltaram a importância da compreensão integrada entre morfologia polínica, fisiologia celular e estádio de desenvolvimento floral. Ao evidenciar que a interação ocorreu apenas entre espécies e estádios florais, e que as duas metodologias utilizadas apresentaram comportamento

semelhante, este estudo reforça a confiabilidade das técnicas aplicadas e contribui para a construção de protocolos mais precisos em pesquisas de biologia reprodutiva, conservação e melhoramento da família Bromeliaceae.

Receptividade do estigma

As duas metodologias utilizadas, α-naftil-acetato associado ao fast blue B salt e a reação com peróxido de hidrogênio a 3%, comportaram-se de maneira similar, apresentando respostas convergentes em todas as espécies avaliadas (Tabela 6 e Figura 2K-N). Essa consistência entre os métodos reforça a confiabilidade dos resultados e permite caracterizar com clareza os períodos de maior receptividade estigmática nas espécies de *Portea*.

Tabela 6. Receptividade do estigma em 8 espécies de *Portea* (Bromelioideae, Bromeliaceae) endêmicas do Brasil, ocorrentes na Mata Atlântica e avaliada na pré-antese, antese e pós-antese em duas diferentes metodologias.

Espécies	*α-naftil-acetate + fast blue B salt*			Peróxido de Hidrogênio 3%		
	Pré-antese	Antese	Pós-antese	Pré-antese	Antese	Pós-antese
P. alatissepala	+	+++	+++	+	+++	+++
P. filifera	+	+++	+++	+	+++	+++
P. fosteriana	++	+++	+++	++	+++	+++
P. grandiflora	+	+++	+++	+	+++	+++
P. kermesina	+	+++	+++	+	+++	+++
P. nana	+	+++	+++	+	+++	+++
P. petropolitana	++	+++	+++	++	+++	+++
P. silverae	+	+++	+++	+	+++	+++

Dafni e Maués (1998): (-) sem reação; (+) resposta positiva fraca; (++) resposta positiva forte; (+++) resposta positiva muito forte.

De forma geral, durante a pré-antese a maioria das espécies apresentou apenas reações positivas fracas (+), tanto na detecção de esterases quanto de peroxidases, como observado em *P. alatissepala*, *P. filifera*, *P. grandiflora*, *P. kermesina* e *P. silverae* (Tabela 6 e Figura 2K-N). Algumas espécies, entretanto, como *P. fosteriana* e *P. petropolitana*, já exibiram respostas positivas fortes (++), indicando que, em determinados casos, a atividade enzimática pode iniciar-se ainda nesse estádio de desenvolvimento floral. O ápice de receptividade ocorreu na antese e na pós-antese, quando todas as espécies expressaram atividade enzimática com resposta positiva muito forte (+++) (Tabela 6 e Figura 2K-N).

O padrão de aumento progressivo da receptividade até o máximo na antese e manutenção de níveis elevados na pós-antese sugere uma janela ampla de oportunidade para a polinização, embora o pico de resposta enzimática concentre-se no momento da antese. Resultados semelhantes já haviam sido relatados em espécies de outros gêneros de Bromeliaceae. Em estudos realizados por Silva et al. (2024) com representantes de *Hohenbergia* e por Nascimento et al. (2025a) em *Wittmackia*, a receptividade também foi máxima na antese e pós-antese, corroborando os achados deste trabalho e indicando que esse padrão pode ser recorrente em diferentes espécies e gêneros da família.

A semelhança entre as metodologias testadas confere ainda maior robustez à interpretação dos dados, já que ambas detectaram o mesmo comportamento estigmático. Isso é particularmente importante porque os testes baseiam-se em enzimas diferentes: enquanto o peróxido de hidrogênio evidencia a presença de peroxidases pela liberação de bolhas (Figura 2K-M), o α-naftil-acetato associado ao fast blue B salt reage com esterases, gerando coloração intensa nas papilas estigmáticas (Figura 2L-N). A coincidência dos resultados demonstra que tanto peroxidases quanto esterases atuam de forma integrada nos processos de receptividade do estigma, desde a adesão até a germinação dos grãos de pólen, além de desempenharem provável papel nos mecanismos de reconhecimento e incompatibilidade reprodutiva (Kulloli et al., 2010; Souza et al., 2016).

Do ponto de vista funcional, a presença de alta atividade enzimática na antese e pós-antese representa uma sincronização adaptativa entre a receptividade estigmática e a viabilidade polínica nessas espécies, condição essencial para o sucesso da fecundação. Essa coincidência aumenta as chances de polinização cruzada, favorecendo a variabilidade genética e reduzindo os riscos de depressão endogâmica (Souza et al., 2016; Silva et al., 2024). Ao mesmo tempo, a manutenção de receptividade elevada na pós-antese amplia as oportunidades de fecundação, sobretudo em ambientes naturais onde pode haver variações na visitação de polinizadores (Sousa et al., 2021).

Os resultados obtidos possuem grande relevância para programas de cruzamentos controlados e melhoramento genético. O conhecimento preciso do período de máxima receptividade estigmática permite otimizar o planejamento de cruzamentos controlados, assegurando que os grãos de pólen viável sejam depositados no momento mais favorável à fecundação (Souza et al., 2017a; 2022; Zulkarnain et al., 2019).

Espécies como *P. fosteriana* e *P. petropolitana*, que já apresentaram respostas mais intensas ainda na pré-antese, podem oferecer uma janela reprodutiva mais ampla.

Assim, ao evidenciar que ambas as metodologias se comportaram de forma semelhante e que a antese e a pós-antese representam os estádios de máxima receptividade, este estudo contribui de maneira significativa para o entendimento da biologia reprodutiva de *Portea*. Além de aprofundar o conhecimento ecológico sobre o gênero, os dados apresentados fornecem subsídios valiosos para estratégias de conservação e para a realização de cruzamentos interespecíficos e intergenéricos em programas de melhoramento genético da família Bromeliaceae.

CONCLUSÕES

A morfologia polínica de *Portea* apresenta padrão uniforme, com grãos pantoporados, exina reticulada e lúmen irregular, exibindo apenas variações quantitativas entre as espécies. Esse padrão morfológico, aliada à plasticidade morfométrica, confirma o valor dos caracteres polínicos como ferramentas diagnósticas e como indicadores de possíveis adaptações às condições ambientais.

As análises estigmáticas apresentam dois padrões distintos: o tipo conduplicado-espiral, predominante no gênero, e o conduplicado-patente, exclusivo de *Portea filifera*. Essa diferenciação, associada a contrastes no comprimento do estilete, diâmetro estigmático e presença ou ausência de papilas, sugere que os caracteres florais exercem papel relevante na delimitação taxonômica e podem indicar linhagens divergentes dentro do grupo.

Os testes histoquímicos evidenciam elevada viabilidade polínica durante a antese, coincidindo com o período de maior potencial reprodutivo das espécies. A concordância entre os métodos de Alexander e FDA reforça a robustez das análises, demonstrando que ambos são eficazes para estimar a viabilidade e aplicáveis em protocolos de conservação e melhoramento.

Os ensaios de germinação *in vitro* confirmam a antese como estádio ideal para a fecundação, com maiores percentuais de germinação e tubos polínicos mais longos. O meio SM mostra-se superior ao BM para a maioria das espécies, ressaltando que a eficiência germinativa depende não apenas da fisiologia dos grãos de pólen, mas também da composição nutricional do meio de cultura e estádio de desenvolvimento floral.

A receptividade estigmática apresenta valores máximos na antese e mantém-se elevada na pós-antese, compondo uma janela temporal ampla e sincronizada com a viabilidade dos grãos de pólen. Esse padrão indica que a reprodução em *Portea* é favorecida pela ausência de dicogamia, o que amplia as oportunidades de polinização cruzada e aumenta as chances de fecundação bem-sucedida em ambientes naturais.

De forma integrada, a combinação entre morfologia polínica, diversidade estigmática, elevada viabilidade, boa germinação *in vitro* e ampla receptividade estigmática revela um sistema reprodutivo eficiente no gênero *Portea*. Esses resultados ampliam o conhecimento da biologia reprodutiva do gênero e oferecem subsídios aplicados para conservação, taxonomia e programas de cruzamentos controlados em Bromeliaceae endêmicas da Mata Atlântica.

REFERÊNCIAS

AGUILAR-CRUZ, Y.; MILKE, F.; LEINBERGER, J.; POEHLEIN, A.; ZOTZ, G.; BRINKHOFF, T. Diversity and putative metabolic function of prokaryotic communities in tank bromeliads along an elevation gradient in tropical Mexico. **Frontiers in Microbiology,** v. 13, e. 945488, 2022.

ALEXANDER, M.P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bactéria. **Stain Technology**, v. 55, n. 1, p. 13-18,1980.

ALEXANDER, M.P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. **Stain Technology**, v. 44, n. 1, p. 117-22, 1969.

ALMEIDA, M.M. TAVARES, A.L.; KESSOUS, I.M. *Portea.* **In: Florado Brasil 2020**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB6324. Acesso em: 11 out. 2023.

AMARAL-FILHO, J.D.; MACIEL, J.R. Visiting dynamics in tank-bromeliads after enrichment of a reforested urban patch of the Atlantic Forest. **Rodriguésia**, v. 75, p. e. 01322022, 2024.

ARENAS-DE-SOUZA, M.D.; ROSSI, A.A.B.; VARELLA, T.L.; SILVEIRA, G.F.; SOUZA, S.A.M. Stigmatic receptivity and pollen viability of *Theobroma subincanum* Mart.: fruit species from the Amazon region. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 4, e-757, 2016.

BAHIA - Governo do Estado da Bahia. Portaria SEMA nº 40, de 21 de agosto de 2017. Lista oficial das espécies endêmicas da flora ameaçadas de extinção do Estado da Bahia. **Diário Oficial do Estado da Bahia**, Salvador, 22 ago. 2017.

BAKER, J. G. **Handbook of the Bromeliaceae.** London: George Bell & Sons, 1889. 243 p.

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

BASTOS, M.J.S.M.; BASTOS, L.P.; SOUZA, E.H.; SOARES, T.L.; MORAIS, D.V.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C. Floral and reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, v. 31, n. 4, p. 665-676, 2017.

BOŽIČ,A.; ŠIBER, A. Mechanical design of apertures and the infolding of pollen grain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 43, p. 26600-26607, 2020.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022. **Atualiza as listas oficiais das espécies da flora e da fauna brasileiras ameaçadas de extinção**. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 109, p. 76–82, 8 jun. 2022. Disponível em: https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mma-n-148-de-7-de-junho-de-2022-406272733. Acesso em: 4 jun. 2025.

BREWBAKER, J.L.; KWACK, B.H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube gowth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.

BROWN, G.K.; GILMARTIN, A.J. Stigma structure and variation in Bromeliaceae Neglected taxonomic caracteres. **Brittonia**, v. 36, 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, 1989.

BROZ, A.K.; BEDINGER, P.A. Pollen-pistil interactions as reproductive barriers. **Annual Review of Plant Biology**, v. 72, p. 615-639, 2021.

CHAPMAN, L.A.; GORING, D.R. Pollen-pistil interactions regulating successful fertilization in the Brassicaceae. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 7, p. 1987-1999, 2010.

COGLIATTI-CARVALHO, L.; ROCHA, C.F.D.; FREITAS, A.F.N.; RÓZ, E.D. Volume de água armazenado no tanque de bromélias, em restingas da costa brasileira. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 1, p. 84-95, 2010.

COUTO, D.R.; KESSOUS, I.M.; NEVES, B.; PAIXAO-SOUZA, B.; FARIA, C.G.; BARFUSS, M.H.J.; SA-HAIAD, B.; SALGUEIRO, F.; COSTA, A. F. Molecular phylogenetics and trait evolution in *Stigmatodon* (Bromeliaceae, Tillandsioideae), an endemic genus to Brazilian rocky outcrops. **Systematic Botany,** v. 47, p. 347-362, 2022.

CRISPIM, J.G.; RÊGO, E.R.; RÊGO, M.M.; NASCIMENTO, N.F.F.; BARROSO, P.A. Stigma receptivity and anther dehiscence in ornamental pepper. **Horticultura Brasileira**, v. 35, p. 609-612, 2017.

CUNHA, N.L.; AIZEN, M.A. Pollen production per flower increases with floral display size across animal-pollinated flowering plants. **American Journal of Botany,** v. 110, n. 6, e. 16180, 2023.

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

DAFNI, A.; MAUÉS, M.M. A rapid and simple method to determine stigma receptivity. **Sexual Plant Reproduction**, v. 2, n. 3, p. 117-180, 1998.

DEPRÁ, M.S.; GAGLIANONE, M.C. Interações entre plantas e polinizadores sob uma perspectiva temporal. **Oecologia Australis**, v. 22, n. 1, p. 1-16, 2018.

DRESSELHAUS, T.F.; FRANKLIN-TONG, N. Male-female crosstalk during pollen germination, tube growth and guidance, and double fertilization. **Molecular Plant**, v. 6, n. 4, p. 1018-1036, 2013.

EDLUND, A.F.; SWANSON, R.; PREUSS, D. Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination. **The Plant Cell**, v. 16, p. S84-S97, 2004.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy**. Angiosperms. Atockholm: Almqvist and Wiksell, 1952. 248 p.

FARIA, A.P.G.; WENDT, T.; BROWN, G.K. Cladistic relationships of Aechmea (Bromeliaceae: Bromelioideae) and allied genera. **Annals of the Missouri Botanical Garden,** v. 91, n. 2, p. 303-319, 2004.

FERREIRA, M.D.F.; LEME, E.M.; AONA, L.Y.; SOUZA, F.V.D.; MOURA, H.; SOUZA, E.H. Microendemism, high diversity and taxonomic novelties in Bromeliaceae: studies from an Atlantic Forest hotspot in Bahia, Brazil. **Journal for Nature Conservation**, v. 79, p. 126599, 2024.

FORZZA, R.C.; COSTA, A.; SIQUEIRA FILHO, J.A.; MARTINELLI, G.; MONTEIRO, R.F.; SANTOS-SILVA, F.; SARAIVA, D.P.; PAIXÃO-SOUZA, B.; LOUZADA, R.B.; VERSIEUX, L. Bromeliaceae. In: **Lista de espécies da flora do Brasil.** Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/FB6324. Acesso em: 23 jul. 2025.

FORZZA, R.C.; COSTA, A.F.; LEME, E.M.C.; VERSIEUX, L.M.; WANDERLEY, M.G.L.; LOUZADA, R.B.; MONTEIRO, R.F.; JUDICE, D.M.; FERNANDEZ, E.P.; GORGES, R.A.X.; PENEDO, T.S.A.; MONTEIRO, N.P.; MORAE, M.A. Bromeliaceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro Vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. pp. 315-396.

FORZZA, R.C.; COSTA, A.F.; MACIEL, J.R.; KESSOUS, I.M.; MONTEIRO, R.F.; FARIA, A.P.G.; TARDIVO, R.C.; BÜNEKER, H.M.; SARAIVA, D.P.; MOREIRA, B.A.;JACQUES,

S.S.A.; ALMEIDA, M.M.; SANTOS-SILVA, F.; LOUZADA, R.B.;MOURA, R.L.; COUTO, D.R.; NEVES, B.; OLIVEIRA, F.M.C.; ARAÚJO, C.C.; GONÇALVES-OLIVEIRA, R.C.; VERSIEUX, L.M.; ROMANINI, R.P.; MACHADO,T.M.; SILVA, R.S.A.; SOUZA, B.P.; GOMES-DA-SILVA, J.; URIBBE, F.P. ;GUARÇONI, E.A.E.; SOUSA, L.O.F.; PONTES, R.A.S.; NOGUEIRA, M.G.C.;SOUSA, G.M.; KOCH, A.K.; PICANÇO, W.L.; CARDOSO, P.H.; MARTINS, S.E.; BARBOSA-SILVA, R.G.; WANDERLEY, M. G. L. **Bromeliaceae in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB66. Acesso em: 12 ago. 2025.

HADDAD, N.M.; BRUDVIG, L.A.; CLOBERT, J.; DAVIES, K.F.; GONZALEZ, A.; HOLT, R.D.; LOVEJOY, T.E.; SEXTON, J.O.; AUSTIN, M.P.; COLLINS, C.D.; COOK, W.M.; DAMSCHEN, E.I.; EWERS, R.M.; FOSTER, B.L.; JENKINS, C.N.; KING, A.J.; LAURANCE, W.F.; LEVEY, D.J.; MARGULES, C.R.; MELBOURNE, B.A.; NICHOLLS, A.O.; ORROCK, J.L.; SONG, D.X.; TOWNSHEND, J.R. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. **Science Advances**, v. 2, n. 1, p.15-52, 2015.

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

HALBRITTER, H.; TILL, W. *Portea alatisepala.* In: **PalDat** - A palynological database. 2016. Disponível em: https://www.paldat.org/pub/Portea_alatisepala/301065; Acesso em: 29 ago. 2025.

HALBRITTER, H. *Portea fosteriana.* In: **PalDat** - A palynological database. 2016a. Disponível em: https://www.paldat.org/pub/Portea_fosteriana/300305; Acesso em: 29 ago. 2025.

HALBRITTER, H. *Portea grandiflora*. In: **PalDat** - A palynological database. 2018. Disponível em: https://www.paldat.org/pub/Portea_grandiflora/303138; Acesso em: 29 ago. 2025.

HALBRITTER, H. *Portea kermesina.* In: **PalDat** - A palynological database. 2016b. Disponível em: https://www.paldat.org/pub/Portea_kermesina/300674; Acesso em: 29 ago. 2025.

HALBRITTER, H. *Portea petropolitana.* In: **PalDat** - A palynological database. 2016c. Disponível em: https://www.paldat.org/pub/Portea_petropolitana/300342; Acesso em: 29 ago. 2025.

HALBRITTER, H. *Portea silveirae.* In: **PalDat** - A palynological database. 2016d. Disponível em: https://www.paldat.org/pub/Portea_silveirae/300328; Acesso em: 29 ago. 2025.

HALBRITTER, H.; ULRICH, S.; GRÍMSSON, F.; WEBER, M.; ZETTER, R.; HESSE, M.; BUCHNER, R.; SVOJTKA, M.; FROSCH-RADIVO, A. **Illustrated pollen terminology**. 2 ed. Vienna: Springer, 2018. 487 p.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Evaluation of pollen viability by enzymatically induced fluorescence; intracellular hydrolysis of fluorescein diacetate. **Stain Technology,** v. 45, n. 3, p. 115-120, 1970.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Surfaces and secretions in the pollen-stigma interaction: a brief review. **Journal of Cell Science.** v. 2, p. 287-300, 1985.

HESLOP-HARRISON, Y.; SHIVANNA, K. R. The receptive surfasse of the Angiosperm stigma. **Annals of Botany,** v. 41, p. 1233-1258, 1977.

HISCOCK, S.J.; ALLEN, A.M. Diverse cell signalling pathways regulate pollen-stigma interactions: the search for consensus. **New Phytologist**, v. 179, n. 2, p. 286-317, 2008.

JANY, E.; NELLES, H.; GORING, D.R. The molecular and cellular regulation of Brassicaceae self-Incompatibility and self-pollen rejection. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 343, p. 1-35, 2019.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology,** v. 27, n. 2, p. 137-138A, 1965.

KEARNS, C.A.; INOUYE, D.W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, 1993. 583 p.

KULLOLI, S.K.; RAMASUBBU, R.; SREEKALA, A.K.; PANDURANGAN, A.G. Cytochemical localization of stigma-surface esterase in three species of Impatiens (Balsaminaceae) of Western Ghats. **Asian Journal of Experimental Biological Sciences**, v. 1, p. 106-111, 2010.

LEME, E.M.; HALBRITTER, H.; BARFUSS, M.H. *Waltillia*, a new monotypic genus in Tillandsioideae (Bromeliaceae) arises from a rediscovered, allegedly extinct species from Brazil. **Phytotaxa**, v. 299, p. 1-35, 2017.

LEME, E.M.C.; SOUZA, E.H.; TILL, W.; BARFUSS, M.H.J.; SIQUEIRA FILHO, J.A.; KOLLMANN, L.J.C.; COUTO, D.R.; FRAGA, C.N.D.; FONTANA, A.P.; FARIAS-CASTRO, A.S.; SILVA, J.B.F.D. Twenty miscellaneous new species and one new nothogenus and nothospecies in Brazilian Bromeliaceae. **Phytotaxa**, v. 692, p. 39-42, 2025.

MEDEIROS, Í.L.S.; MELO, A.L.; MELO, M. Aquatic invertebrate diversity in tank bromeliads in an enclaved wet forest in Brazil's semiarid region. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 59, n. 1, p. 84-98, 2022.

MEZ, C. Bromeliaceae. In: MARTIUS, C.F.P. **Flora Brasiliensis**, v. 3, n. 3, p. 173-634, 1891-1894.

MOTA, S.S. ; FARO, I.A. M.; SOUZA, F.V.D. ; AONA, L.Y.S. ; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Reproductive systems and hybridization of *Lymania* species (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil threatened with extinction. **Scientia Horticulturae**, v. 322, e. 112447, 2023.

MOTA, S.S.; FARO, I.A.M.; SOARES, T.L.; ALMEIDA, P.S.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; ROSSI, M.L.; SOUZA, E.H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 338, e. 112890, 2024.

MOURA, R.L.; COSTA, A.F.; ARAÚJO, D.S.D. Bromeliaceae das restingas fluminenses: florística e fitogeografia. **Arquivos do Museu Nacional,** v. 65, n. 2, p. 139-168, 2007.

NASCIMENTO, G.Q.S.S.; SILVA, T.A.; ALMEIDA, P.S.; ROSSI, M.L.; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Pollen and stigma morphology, pollen viability and stigma receptivity of *Wittmackia species* (Bromeliaceae) by light, fluorescence and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 88, n. 5, p. 1451-1477, 2025a.

NASCIMENTO, G.Q.S.S.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Reproductive systems and hybridization for ornamental use of *Wittmackia* (Bromeliaceae) endemic to Brazil and occurring in the Atlantic Forest fragments. **Euphytica,** v. 221, n. 40, p. 1-21, 2025b.

OLIVEIRA, F.M.C.; LOUZADA, R.B.; WANDERLEY, M.G.L.; MELO-DE-PINNA, G.F. A. Morphoanatomical characters in the Nidularioid Complex (Bromeliaceae: Bromelioideae) from a phylogenetic perspective. **Flora**, v. 239, p. 111-121, 2018.

PARTON, E.; VERVAEKE, R. DELEN, B.R. VANDENBUSSCHE, R. DE PROFT, M. Viability and storage of bromeliad pollen**. Euphytica**, v. 125, p. 155-161, 2002.

PEARSE, A.G.E. **Histochemistry, theoretical and applied.** 2.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone. Elsevier, 1972. 631 p.

PUNT, W.; HOEN, P.P.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 143, n. 1-2, p.1-81, 2007.

RASBAND, W.S. **ImageJ**, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 1997-2018. Disponível em: https://imagej.nih.gov/ij/, Acesso em: 10 mai. 2025.

RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de preparation des grains de pollen fragiles. **Adansonia**, v. 2, n. 11, p. 77-79, 1979.

READ, R.W.; LUTHER, H.E. The *Aechmea/ Gravisia* complex (Bromeliaceae). **Selbyana**, v. 12, p. 54-67, 1991.

RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.J.; HIROTA, M.M. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation,** v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.

ROCHA, C.F.D.; COGLIATTI-CARVALHO, L.; NUNES-FREITAS, A.F.; ROCHA-PESSÔA, T.C.; DIAS, A.S.; ARIANI, C.V.; MORGADO, L.N. Conservando uma larga porção da diversidade biológica através da conservação de Bromeliaceae. **Vidalia**, v. 2, n. 1, p. 52-72, 2004.

ROCHA, L.D.A.; BEZERRA, J.J.L.; PRATA, A.P.N.; COFFANI-NUNES, J.V.; ASSUNÇÃO, A.C.R.; FARIAS, M.C.V. Florística, aspectos fenológicos e agrupamentos ecológicos de Bromeliaceae na Caatinga em Sergipe. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 6, n. 3, p. 248-258, 2021.

SILVA, T.A.; FAGUNDES, A.C.A.; NASCIMENTO, G.Q.S.S; AONA, L.Y.S.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Seasonal phenology and pollinator similarity of two species of *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromelioideae: Bromeliaceae) in distinct Atlantic Forest fragments. **The Science of Nature**, v. 112, n.38, 2025.

SILVA, T.A.; NASCIMENTO, G.Q.S.S.; ALMEIDA, P.S.; CAVALCANTE, B.P.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.S.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, E.H. Pollen morphology, viability, and stigma receptivity of *Hohenbergia* (Bromeliaceae) species occurring in the Atlantic forest biome with potential for landscaping and cut flowers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 72, n. 2, p. 2007-2029, 2024.

SILVA, V.J.D.; RIBEIRO, E.M.; LUIZI-PONZO, A.P.; FARIA, A.P.G. Ultrastructure and pollen morphology of Bromeliaceae species from the Atlantic Rainforest in Southeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 1, p. 439-449, 2016.

SIQUEIRA-FILHO, J.A.; LEME, E.M.C. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste:** Biodiversidade, conservação e suas bromélias. Andrea Jakobsson Estúdio Editorial Ltda., Rio de Janeiro. 2006. 416 p.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, v. 14, n. 3, p. 20-64, 1979.

SOARES, T.L.; SILVA, S.O.; COSTA, M.A.P.C.; SANTOS-SEREJO, J.A.; SOUZA, A.S.; LINO, L.S.M.; SOUZA, E.H.; JESUS, O.N. *In vitro* germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 111-118, 2008.

SOUSA, M.P.; VEROLA, C.F.; RIBEIRO-SILVA, S.; ZAPPI, D.C.; SOUZA, E.H.; MORAES, E.M.; TAYLOR, N.P.; AONA, L.Y.S. Pollen-feeding bees in *Uebelmannia pectinifera* reproductive biology of an endemic cactus from the campo rupestre of eastern Brazil. **Nordic Journal of Botany**, v. 39, e.02924, 2021.

SOUZA, C.G.F.; RAMOS, S.M.B.; NIETSCHE, S.; POSSOBOM, C.C.; ALMEIDA, E.F.A.; PEREIRA, M.C.T. Viability of pollen grains and stigma receptivity in Desert Rose Received. **Ornamental Horticulture,** v. 28, n.1, p. 92-98, 2022.

SOUZA, E.H.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; MARTINELLI, A.P. Stigma structure and receptivity in Bromeliaceae. **Scientia Horticulturae**, v. 203, n. 1, p. 118-125, 2016.

SOUZA, E.H.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; BRANCALLEÃO, N.; LEDO, C.A.S.; MARTINELLI, A.P. Viability, storage and ultrastructure analysis of Aechmea bicolor (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic forest. **Euphytica**, v. 204, p. 13-28, 2015.

SOUZA, E.H.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; PACKER, R.M.; CRUZ-BARROS, M.A.V.; MARTINELLI, A.P. Pollen morphology and viability in Bromeliaceae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, p. 3067-3082, 2017a.

SOUZA, E.H.; VERSIEUX, L.M.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; COSTA, M.A.P.C.; MARTINELLI, A.P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. **Scientia Horticulturae**, v. 221, p. 1-20, 2017b.

SOUZA, S.O.; OLIVEIRA, R.S.; SOUZA, F.V.D.; AONA, L.Y.L.; ROSSI, M.L.; SOUZA, E.H. Morphoanatomy and stigma receptivity in *Tillandsia L.* (Bromeliaceae) occurring in Bahia. **Nordic Journal Botany**, v. 38. n. 9, p. 1-10, 2020.

TAYLOR, L.P.; HEPLER, P.K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,** v. 48, p. 461-491, 1997.

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

WANDERLEY, M.G.L.; MELHEM, T.S. Flora Polínica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga - Família 178- Bromeliaceae. **Hoehnea,** v. 18, n. 1, p. 5-42. 1991.

ZEISLER, M. Uber die Abgrenzung des eigentlichen Narbenflache mit Hilfe von Reaktionen. **Beihefte zum Botanischen Centralblatt**, v. 58, p. 308-318, 1933.

ZULKARNAIN, Z.; ELIYANTI, E.; SWARI, E.I. Pollen viability and stigma receptivity in *Swainsona formosa* (G. Don) J. Thompson (Fabaceae), an ornamental legume native to Australia. **Ornamental Horticulture,** v. 25, p. 158-167, 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo amplia significativamente o conhecimento sobre a biologia floral e reprodutiva de espécies dos gêneros *Canistrum* e *Portea* (Bromeliaceae: Bromelioideae), ambos endêmicos da Mata Atlântica e de ocorrência restrita em áreas frequentemente sujeitas à fragmentação e degradação ambiental. Ao integrar análises de morfologia polínica e estigmática, viabilidade polínica, germinação *in vitro* e receptividade estigmática, foi possível traçar um panorama abrangente sobre o potencial reprodutivo dessas espécies e suas implicações taxonômicas e conservacionistas.

Os resultados mostram que *Canistrum* apresenta ampla variabilidade polínica, com diferenças marcantes em forma, polaridade e ornamentação da exina, enquanto *Portea* mantém padrão mais uniforme, com grãos pantoporados e exina reticulada. Essa distinção sugere que os caracteres polínicos são úteis não apenas como marcadores taxonômicos, mas também como indicadores de divergência evolutiva entre os gêneros. Do ponto de vista estigmático, o predomínio do tipo conduplicado-espiral em ambos os grupos, associado à ocorrência de conduplicado-patente em *P. filifera*, reforça o valor diagnóstico das estruturas florais e evidencia potenciais linhagens divergentes.

A avaliação da viabilidade polínica demonstrou que ambos os gêneros apresentam grãos de pólen altamente viável durante a antese, resultado corroborado pelos ensaios de germinação *in vitro*. A eficiência germinativa foi mais expressiva no meio SM, confirmando sua adequação para estudos de conservação e cruzamentos controlados. Esses achados reforçam a importância de protocolos padronizados para avaliação da viabilidade polínica, permitindo comparações entre espécies e a construção de estratégias de manejo reprodutivo mais eficazes.

A receptividade estigmática mostrou-se elevada na antese e manteve-se consistente na pós-antese, indicando uma ampla janela temporal para a fecundação. Essa sincronia entre grãos de pólen e estigma, associada à ausência de dicogamia, sugere que tanto *Canistrum* quanto *Portea* possuem sistemas reprodutivos eficientes, potencialmente favorecendo a polinização cruzada em ambientes naturais. Esse padrão representa uma vantagem adaptativa importante em ecossistemas fragmentados, nos quais a disponibilidade de polinizadores pode ser reduzida.

De forma aplicada, os resultados oferecem subsídios para programas de conservação *in situ* e *ex situ*. O conhecimento detalhado da biologia floral dessas espécies pode orientar a definição de áreas prioritárias para preservação, a seleção de

genitores em programas de melhoramento e a condução de cruzamentos controlados para geração de híbridos com maior potencial paisagístico.

Ainda assim, há lacunas a serem exploradas em estudos futuros. A integração dos dados morfológicos e funcionais aqui apresentados com informações sobre visitantes florais, sistemas de polinização e padrões de frutificação poderá ampliar a compreensão das interações ecológicas que sustentam o sucesso reprodutivo dos gêneros. Estudos envolvendo genética de populações, análises de fluxo gênico e experimentos de hibridação interespecífica também são caminhos promissores para elucidar barreiras reprodutivas e potenciais adaptativos em cenários de mudança climática.

Em síntese, este trabalho evidencia que *Canistrum* e *Portea* apresentam sistemas reprodutivos altamente funcionais, com elevada viabilidade polínica, receptividade estigmática ampla e estruturas florais de valor diagnóstico. Esses achados contribuem não apenas para a taxonomia e conservação de espécies endêmicas e ameaçadas da Mata Atlântica, mas também para a aplicação em programas de manejo e melhoramento. A partir dos dados aqui obtidos, abre-se um campo fértil para pesquisas complementares que fortaleçam a integração entre conservação da biodiversidade, uso sustentável e valorização ornamental das Bromeliaceae.