

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

**PEDRO SCHWAMBACH DE ALMEIDA**

**MORFOLOGIA POLÍNICA NO GÊNERO *DYCKIA* (BROMELIACEAE) - ESPÉCIES  
PERTENCENTES AO GRUPO INFORMAL “MARITIMA”**

**Porto Alegre - RS**

**2020**

**PEDRO SCHWAMBACH DE ALMEIDA**

**MORFOLOGIA POLÍNICA NO GÊNERO DYCKIA (BROMELIACEAE) - ESPÉCIES  
PERTENCENTES AO GRUPO INFORMAL “MARITIMA”**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Botânica pelo Programa de Pós-graduação em Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ernesto Araújo Mariath

Co-orientador: Prof. Dr. Rinaldo Pires dos Santos

**Porto Alegre - RS**

**2020**

### CIP - Catalogação na Publicação

SCHWAMBACH DE ALMEIDA, PEDRO  
MORFOLOGIA POLÍNICA NO GÊNERO DYCKIA - ESPÉCIES  
PERTENCENTES AO GRUPO INFORMAL "MARITIMA" / PEDRO  
SCHWAMBACH DE ALMEIDA. -- 2020.

75 f.

Orientador: JORGE ERNESTO DE ARAÚJO MARIATH.

Coorientador: RINALDO PIRES DOS SANTOS.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa  
de Pós-Graduação em Botânica, Porto Alegre, BR-RS,  
2020.

1. PALINOLOGIA. 2. DYCKIA. 3. "COMPLEXO MARITIMA".  
I. ERNESTO DE ARAÚJO MARIATH, JORGE, orient. II.  
PIRES DOS SANTOS, RINALDO, coorient. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

Faço questão de demonstrar agradecimento àqueles que contribuíram para a viabilização desta dissertação. Ao mesmo tempo, não pretendo ser extenso ou enfadonho, afinal tenho a intenção de que as pessoas leiam os agradecimentos e, assim, aqueles a quem se agradece serão efetivamente lembrados. Assim é a comunicação. Carece de uma origem e um destinatário. A ideia não é o cumprimento de uma formalidade quase ritualística. É sim um agradecimento, uma honraria sincera, ainda que seu valor seja questionável, já que ofereço não mais que papel e tinta.

Por esta razão e para não cometer injustiças ao esquecer alguém, agradeço de um modo geral aos estudantes, professores, funcionários da limpeza e técnicos de laboratório do Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVeg), por todo companheirismo e atividades bem prestadas, o que possibilitou a realização desta dissertação. Institucionalmente, agradeço também à Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul e aos Herbário, Centro de Microscopia e Microanálises, Programa de Pós-graduação em Botânica e Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e todos os servidores e estagiários vinculados a tais instituições, que se mostraram muito solícitos e disponibilizaram seu acervo e estrutura de maneira desprendida.

Nominalmente, agradeço à Tamara Pastori por toda a ajuda com a estatística e mesmo revisão geral do trabalho. Em especial agradeço à Juliana Troleis por toda a ajuda com a prática de bancada e principalmente pela amizade que desenvolvemos, o que para mim é mais importante que todo o restante. Agradeço também à Henrique M. Büneker pela parceria inclusive em outros projetos e pela cessão de imagens com prontidão.

Agradeço ainda aos professores que contribuíram com a orientação: Prof. Rinaldo Pires dos Santos, por todo aconselhamento, sugestões, ideias e correção das técnicas utilizadas; e prof. Jorge Ernesto Araújo Mariath, que além de ser um orientador muito competente e um professor genial, daqueles que serão por nós lembrados até o final de nossa vida, entrou também, e, novamente, isso é o mais importante, para o rol de amigos pessoais. O prof. Mariath é uma pessoa fantástica e faltariam linhas para escrever um agradecimento justo.

Por fim, agradeço a Bruna Góis Soares de Almeida que de forma abnegada possibilitou a construção deste trabalho, dedicando solitariamente, em alguns momentos, cuidados às nossas filhas e permitindo a criação de espaço físico e emocional no ambiente familiar para que pudesse ser dedicada concentração suficiente para a realização da tarefa. Tenho o privilégio de dividir a vida nos últimos 13 anos com esta pessoa que admiro, respeito e aprendo. Quanto à Ana Soares de Almeida e Esther Soares de Almeida, minhas filhas, agradeço por existirem. Agradeço pelo seu amor incondicional, pelos seus olhos puros e sorriso verdadeiro. A lealdade e confiança que elas possuem é algo indescritível.

Ainda, agradeço a Deus e tentar qualquer agradecimento refinado com palavras seria presunção e uma afronta a sua divindade.

Já ficou extenso, espero que não enfadonho.

“Há muito a respeito de pura tolice”.

Friedrich Nietzsche

(Pois aí vai mais uma)

## RESUMO

A subfamília Pitcairnioideae (Bromeliaceae) é tradicionalmente reconhecida e atualmente é composta por 5 gêneros, dentro eles *Dyckia* Schult. & Schult.f. O gênero é monofilético e constitui o denominado “clado xérico”. Em nível infragenérico, são observadas diversas semelhanças, tanto nos caracteres florais como nos vegetativos, o que se pode observar no grupo denominado de modo informal como “*complexo marítima*”. As espécies que compõem o grupo foram agrupadas principalmente pelas características de suas sementes. No entanto, a proposição do “complexo” é recente e ainda é necessário o seu melhor entendimento. Para tanto, foi utilizada a análise palinológica. Assim, o presente trabalho tem como objetivo geral analisar e comparar as características do grão de pólen das treze espécies do gênero *Dyckia* informalmente agrupadas como “*complexo marítima*”. Para obtenção dos resultados foi utilizada microscopia eletrônica de varredura, microscopia de luz em campo claro, em contraste interferencial e em fluorescência. Todas diferenças observadas foram significativas ( $p < 0,05$ ) e os dados foram submetidos a análises multivariadas com a finalidade de discriminar grupos/espécies entre os indivíduos amostrados, por meio de uma Análise Discriminante (DA) e um Dendrograma. Todas os grãos de pólen das espécies apresentaram as seguintes características, que são comuns ao gênero *Dyckia*: heteropolaridade, forma oblada, tamanho médio e sulco do tipo simples. A exina apresentou sexina (semiteto e columela) e nexina. Não foram detectados elementos suprategmiais. Foram identificados diferentes padrões de ornamentação da sexina: reticulado, microrreticulado, reticulado com grânulos livres ou birreticulado, reticulado com retículo parcialmente descontínuo e reticulado com retículo descontínuo, estes dois últimos com nomenclaturas propostas neste trabalho. Outro caráter com variação foi a margem da abertura. O trabalho adotou a identificação de dois tipos de margem: Tipo “*Puya*”, tradicionalmente descrita para o gênero, e tipo “*Outra*”, que é uma forma resumida de apontar espécies em que a tradicional margem do tipo “*Puya*” não é facilmente identificável. Seguindo as características palinológicas, sugere-se o reconhecimento definitivo das espécies *D. myriostachya*, *D. tomentosa* e *D. polyclada*. O trabalho não incentiva o reconhecimento do proposto “*complexo marítima*”.

**Palavras-chave:** Palinologia. *Dyckia*. “*Complexo marítima*”.

## ABSTRACT

The subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) is traditionally recognized and currently consists of five genera among which is *Dyckia* Schult. & Schult.f. The genus is monophyletic and constitutes the “xeric clade”. Several similarities are present at the infrageneric level, both in floral and vegetative characters, which can be observed in the group informally called the “*maritima complex*”. The species that make up the complex were grouped mainly by characteristics of their seeds. However, the complex has only recently been proposed and a better understanding of it is still needed. For this purpose, a palynological analysis was performed with the general objective of analyzing and comparing characteristics of the pollen grains of thirteen species of the genus *Dyckia* informally grouped as the “*maritima complex*”. Scanning electron microscopy and bright field, inferential contrast and fluorescence optical microscopy were used. All observed differences were significant ( $p < 0.05$ ) and the data were submitted to multivariate analyses in order to discriminate groups/species among the sampled individuals through discriminant analysis and a dendrogram. All pollen grains of the species had the following characteristics, which are common to the genus *Dyckia*: heteropolarity, oblate shape, medium size and simple-type sulcus. The exine possesses a sexine (semitectum and columella) and a nexine. No suprategal elements were detected. Different patterns of sexine ornamentation were identified: reticulate, microreticulate, reticulate with free granulum or bireticulate, reticulate with partially discontinuous reticulum and reticulate with discontinuous reticulum. Nomenclatures are proposed here for latter two patterns. Another variable character was the sulcus border. Two types of sulcus borders were identified: “*Puya*” type, traditionally described for the genus, and the “*Other*” type, which is a summarized way of pointing out species in which the traditional border of the “*Puya*” type is not easily identifiable. Following the palynological characteristics, we suggest the definitive recognition of the species *D. myriostachya*, *D. tomentosa* and *D. polyclada*. The work does not encourage the recognition of the proposed “*maritima complex*”.

**Keywords:** Palynology. *Dyckia*. “*Maritima complex*”.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Espécies do género <i>Dyckia</i> , “complexo marítima” .....	25
Figura 2 – Aspecto geral dos grãos de pólen amostrados .....	36
Figura 3 – Caracteres qualitativos com variação.....	49
Figura 4 – Aspecto geral dos grãos de pólen em secção.....	56
Figura 5 – Análise discriminante (DA) .....	60
Figura 6 – Dendrograma .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Informações das espécies amostradas .....	26
Tabela 2 – Matriz de caracteres morfoanatômicos.....	28
Tabela 3 – Caracteres que apresentaram variação .....	34

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1 A FAMÍLIA BROMELIACEAE A.JUSS .....	12
1.2 TAXONOMIA EM BROMELIACEAE .....	13
1.3 O GÊNERO <i>Dyckia</i> SCHULT. & SCHULT.F. E O “COMPLEXO MARITIMA” .....	15
1.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANATÔMICA .....	18
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
3.1 MATERIAL VEGETAL .....	24
3.2 CARACTERES PALINOLÓGICOS E CITOLÓGICOS ANALISADOS .....	26
3.3 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA .....	31
3.4 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA DE CAMPO CLARO, CONTRASTE INTERFERENCIAL E FLUORESCÊNCIA .....	31
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	33
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>35</b>
4.1 MORFOLOGIA POLÍNICA: CARACTERIZAÇÃO GERAL .....	35
4.2 MORFOLOGIA POLÍNICA: CARACTERES DISTINTIVOS .....	43
4.3 MORFOLOGIA POLÍNICA: OUTRAS OBSERVAÇÕES .....	54
4.4 “COMPLEXO MARITIMA” .....	59
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>67</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 A FAMÍLIA BROMELIACEAE A.JUSS

A família Bromeliaceae é um grupo de angiospermas monocotiledôneas, pertencente à ordem Poales (APG IV, 2016; BOUCHENAK-KHELLADI; MUASYA; LINDER, 2014). Ela é constituída por plantas com grandes distinções morfológicas e ecológicas entre si, além de possuir vasta riqueza em espécies, apresentando importante diversidade biológica (GIVNISH *et al.*, 2011). Podem ser terrestres, rupícolas e epífitas, geralmente herbáceas, variando de plantas delicadas e de pequeno porte com alguns centímetros de comprimento, até plantas de grande porte atingindo mais de 10 metros de altura (SMITH; DOWNS, 1974), e representam a segunda maior família em número de espécies epífitas dentre as angiospermas (BENZING, 2000).

A família possui predominância neotropical, com ampla distribuição nas américas, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais (BENZING, 2000; JUDD *et al.*, 2009). Sua presença territorial está restrita ao novo mundo, exceto por uma espécie com ocorrência no oeste da África (GIVNISH *et al.*, 2014; POREMBSKI; BARTHLOTT, 1999; SMITH; DOWNS, 1974).

A diversidade da família é tamanha, que está presente desde o nível do mar até altitudes que chegam a 4.000 metros, em regiões que podem variar de úmidas a desérticas, além de ocupar locais com espectro de luminosidade bastante amplo. Além disso, o grupo possui representantes com diferentes rotas fotossintéticas, havendo espécies com metabolismo fotossintético tipo C3 e outras com tipo CAM (BENZING, 2000; CRAYN; WINTER; SMITH, 2004), ficando evidente sua adaptabilidade a vários tipos de ambientes (LEME; MARIGO, 1993).

Atualmente, a família possui mais de 3.600 espécies distribuídas em 78 gêneros (GOUDA; BUTCHER, 2020) e destaca-se como um dos principais componentes da flora e da fisionomia de alguns ecossistemas brasileiros. O país abriga aproximadamente 36% das espécies catalogadas de Bromeliaceae (MARTINELLI, 2006), e figura entre os principais em termos de diversidade da família (LEME, 1997). Vários gêneros da família são endêmicos, alguns deles encontrados exclusivamente na Mata Atlântica brasileira. Dos 56 gêneros

pertencentes à família, cerca de 80% ocorrem em território brasileiro, sendo que destes, 22% estão restritos ao país (FORZZA, 2005; ZIZKA *et al.*, 2019).

As bromélias possuem também grande importância ecológica, pois o grupo está ligado a vários processos ecossistêmicos (BENZING, 2000). Suas flores, por exemplo, são fontes de alimento para diversos polinizadores (OLIVEIRA; ROCHA, 1997). Além disso, são também importantes fontes de recursos até mesmo para algumas espécies de primatas, que se alimentam de seus frutos e infrutescências (LEME, 1996).

Por outro lado, a disposição de suas folhas, que possuem um alargamento na base, pode propiciar, em algumas espécies, a formação de um pequeno tanque que serve como reservatório de água e nutrientes. O papel ecofisiológico destes reservatórios é de grande importância, tanto em sua própria nutrição, quanto em constituir um microambiente onde podem habitar animais diversos: formigas, anfíbios, aracnídeos, serpentes e outros (MESTRE; ARANHA; ESPER, 2001). Tais animais podem ainda utilizá-los como abrigo contra predadores, seca, vento e chuvas, ou mesmo como auxílio à reprodução (BENZING, 2000). Além disso, recentemente foi demonstrada a importante característica do reservatório como um regulador térmico (NOGUEIRA *et al.*, 2019), abrindo diversas possibilidades de sua investigação associado a propriedades fisiológicas da planta.

## 1.2 TAXONOMIA EM BROMELIACEAE

A família Bromeliaceae possui monofilia fortemente estabelecida, sendo um clado cedo divergente na ordem Poales (APG IV, 2016; BOUCHENAK-KHELLADI; MUASYA; LINDER, 2014; ESCOBEDO-SARTI *et al.*, 2013). Destacam-se a presença de escamas peltadas, corpos silicosos solitários, perianto diferenciado em cálice e corola e estigmas retorcidos e espiralados como sinapomorfias (SMITH; TILL, 1998). Além disso, estudos baseados em biologia molecular, que são consequência do atual paradigma filogenético em evidência, dão também suporte para a colocação das bromélias como um clado (BARFUSS *et al.*, 2005; GIVNISH *et al.* 2007, 2011; HORRES *et al.*, 2000, 2007).

Quanto à organização taxonômica da família, seu estabelecimento com solidez se viu prejudicado enquanto a base de análise se concentrou em outras abordagens que não propriamente filogenéticas. Isso se deu principalmente pelo

grupo apresentar diversas características compartilhadas entre seus membros, porém, muitas delas, resultado de homoplasias (BENZING, 2000; BROWN; TERRY, 1992). Ainda assim, tradicionalmente, a família Bromeliaceae subdividia-se em três subfamílias: Pitcairnioideae Harms, Bromelioideae Burnett e Tillandsioideae Burnett (BENZING, 2000; STEVENS, 2017), separadas, principalmente, por seus hábitos, bordos foliares, habitats, morfologias florais e morfologias de frutos e sementes (BENZING, 2000; SMITH; DOWNS, 1974; 1979). Tal divisão teve por base os seguintes estados de variação de caracteres: a subfamília Pitcairnioideae possuindo espécies terrestres e sementes aladas dispersadas pelo vento; as Bromelioideae podendo ser terrestres ou epífitas e ter frutos carnosos e sementes dispersadas por animais; e as Tillandsioideae sendo predominantemente epífitas com sementes plumosas e dispersadas pelo vento (BENZING, 2000).

Com o advento de técnicas em biologia molecular, a busca pelas relações filogenéticas dentro do grupo propiciou resultados mais fidedignos e alguns estudos visaram preencher as lacunas existentes. Givnish *et al.* (2007) propuseram uma filogenia para a família, utilizando a sequência plastidial *ndhF* para 35 táxons de Bromeliaceae. Seus resultados dão suporte a uma divisão de Bromeliaceae em oito subfamílias: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hectioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae. Esse arranjo proposto confirmou a monofilia das subfamílias Tillandsioideae e Bromelioideae e resolveu a parafilia de Pitcairnioideae, com a proposição de cinco novas subfamílias. As novas subfamílias possuem distribuição geográfica restrita e são encontradas na América Central (Puyoideae e Hectioideae), nos Andes (Puyoideae) e nas Guianas (Brocchinioideae, Lindmanioideae, Navioideae).

Posteriormente, Givnish *et al.* (2011), em um estudo de vanguarda, utilizando oito sequências plastidiais, confirmaram os resultados anteriores e mantiveram a divisão em oito subfamílias. Os autores também propuseram a história biogeográfica da família, na qual as Bromeliaceae teriam se originado há, aproximadamente, 100 milhões de anos. O local de surgimento foi inferido como o Escudo das Guianas, iniciando sua dispersão pelas Américas em torno de 13 a 16 milhões de anos atrás, com posterior dispersão para a África, há cerca de 9,3 milhões de anos, testemunhada pela espécie hoje existente *Pitcairnia feliciana* (A. Chevalier) Harms & Mildbraed.

Ainda que grandes avanços tenham sido alcançados, diversos problemas taxonômicos permanecem. Nos próprios trabalhos mencionados, algumas inconsistências ficaram evidentes, como, por exemplo, um menor suporte para a monofilia de Puyoideae (GIVNISH *et al.*, 2011). Mais ainda, a delimitação de alguns gêneros ainda é muito tênue e discutível (BARFUSS *et al.*, 2005; BARFUSS *et al.*, 2016; GIVNISH *et al.*, 2011; SCHULTE; ZIZKA, 2008). Assim, evidencia-se a necessidade de continuidade nas pesquisas na área filogenética com enfoque geral e também com abordagens específicas, como trabalhos em anatomia e morfologia comparadas, por exemplo, visando um refinamento do entendimento das relações taxonômicas e evolutivas do grupo, que se mostram altamente complexas.

### 1.3 O GÊNERO *Dyckia* SCHULT. & SCHULT.F. E O “COMPLEXO MARITIMA”

Como mencionado, a subfamília Pitcairnioideae é tradicionalmente reconhecida e possui características próprias que ajudaram a definir o grupo como independente das demais subfamílias historicamente bem estabelecidas em Bromeliaceae (Bromelioideae e Tillandsioideae). Ainda que sua parafilia tenha sido resolvida com o estabelecimento de outras cinco subfamílias, seus caracteres gerais ainda auxiliam em sua distinção e identificação em campo. Suas espécies são terrestres, possuem sementes aladas anemocóricas e fruto do tipo cápsula. Além disso, suas pétalas permanecem livres após a antese, ou com leve enrolamento (GIVNISH *et al.*, 2007; SMITH; DOWNS, 1974).

A distribuição da subfamília percorre boa parte da América Latina, sendo que na América do Sul é principalmente encontrada na região dos Andes, dos Pampas, e outras, inclusive diversas localidades do território brasileiro, como na Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica (BENZING, 2000; GIVNISH *et al.* 2007; SMITH; DOWNS, 1974). Investigações moleculares têm indicado que Pitcairnioideae tem origem na região dos Andes, com sua dispersão às demais regiões tendo iniciado há aproximadamente 13,4 milhões de anos (GIVNISH *et al.*, 2007; 2011).

A subfamília Pitcairnioideae é composta atualmente por 5 gêneros: *Deuterocohnia* Mez., *Dyckia* Schult. & Schult.f., *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult.f., *Fosterella* L.B.Sm. e *Pitcairnia* L'Hér. (GOUDA; BUTCHER, 2020; SCHUTZ *et al.* 2016). Análises filogenéticas foram realizadas utilizando-se dados moleculares plastidiais e nucleares. Os resultados de Schutz *et al.* (2016) deram suporte à

monofilia da subfamília. *Dyckia*, *Encholirium* e *Fosterella* foram considerados gêneros monofiléticos, enquanto que *Deuterocohnia* é parafilética e *Pitcairnia* permanece sem resolução nas análises plastidiais. De outro lado, Gomes-da-silva, Santos-silva e Forzza (2019) não encontraram suporte para a monofilia dos gêneros *Deuterocohnia*, *Dyckia* e *Encholirium*. Um sexto gênero é por vezes mencionado na literatura - *Pepinia* Brongn. ex André (KUHN, 2015; LUTHER, 2014) - no entanto, diversos autores com trabalhos consagrados e com base em análises moleculares consideram tal gênero como sinônimo do gênero *Pitcairnia* (FLORA DO BRASIL, 2020; GIVNISH *et al.*, 2007; 2011; SCHUTZ *et al.* 2016).

Objeto de estudo do presente trabalho, o gênero *Dyckia* possui algumas características peculiares e importantes para sua identificação e individualização. Por possuir a forma de roseta, suas folhas possuem grande importância diagnóstica. De modo geral, elas são espessas e coriáceas com constituição carnosa, apresentando espinhos rígidos dispostos ao longo de toda a margem foliar. Além disso, apresentam escamas peltadas, que possuem função de absorção de água e nutrientes, e metabolismo do tipo CAM. Tais características são coerentes com seu hábito xerofítico (BENZING, 2000; CRAYN; WINTER; SMITH, 2004; REITZ, 1983; STREHL, 1893).

Quanto à morfologia de seus componentes reprodutivos, podem ser citadas suas inflorescências como racemosas, simples ou paniculadas, com flores de coloração variando de amarela à vermelha. A polinização é realizada por insetos ou pássaros e os frutos são do tipo capsular e suas sementes aladas (REITZ, 1983; SMITH; DOWNS, 1974).

O gênero conta atualmente com mais de 170 espécies (GOUDA; BUTCHER, 2020), ocorrendo na América Latina, em países como Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai e em quase todas as regiões do Brasil (SMITH; DOWNS, 1974), sendo o gênero com maior diversidade no estado do Rio Grande do Sul dentre os componentes de Pitcairnioideae. Seus hábitos são terrestres e os locais de sua ocorrência são predominantemente xéricos, como rochas e ambientes com menor disponibilidade de água (FLORA DO BRASIL, 2020).

A delimitação das espécies necessita ainda de atenção (KRAPP *et al.*, 2014; PINANGE *et al.*, 2016; SCHUTZ *et al.*, 2016). Em nível infragenérico, são observadas diversas semelhanças, tanto nos caracteres florais como nos vegetativos, o que justifica a dificuldade para uma clara e uniforme distinção entre as

espécies. A própria individualização do gênero muitas vezes apresenta dificuldades, uma vez que *Dyckia* possui diversas semelhanças com os outros integrantes do “clado xérico” da subfamília, tanto em termos de hábito, quanto do ponto de vista morfológico, e sua distinção de espécies do gênero *Encholirium*, excluídos os caracteres reprodutivos, é, por vezes, inviável (FORZZA, 2005; GOMES-DA-SILVA; AMORIM; FORZZA, 2017; SCHUTZ *et al.*, 2016).

Exemplo das dificuldades acima mencionadas é o grupo endêmico dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina denominado de modo informal como “*complexo maritima*”. As espécies que compõem o referido “complexo” foram agrupadas principalmente por algumas semelhanças morfológicas, além de sua restrita distribuição geográfica. Os critérios inicialmente utilizados para o enquadramento de espécies dentro do grupo são as características de suas sementes.

Em um primeiro momento, Strehl e Beheregaray (2006) propuseram uma divisão do gênero com base em tais características. As espécies *D. maritima* Baker e *D. retardata* Winkler foram agrupadas como possuindo sementes longo-ovaladas, não achatadas e de aspecto retangular, enquanto outras espécies foram agrupadas como possuindo sementes ovaladas, achatadas e discóides, estabelecendo assim uma divisão no gênero. Posteriormente, ao analisar uma quantidade maior de espécies, Büneker *et al.* (2015) identificaram as seguintes espécies com as mesmas características das sementes do primeiro grupo proposto por Strehl e Beheregaray (2006): *D. alba* Winkler, *D. agudensis* Irgang & Sobral, *D. delicata* Larocca & Sobral, *D. domfelicianensis* Strehl, *D. hebdingii* L.B. Smith, *D. myriostachia* Baker, *D. nigrospinulata* Strehl, *D. polyclada* L.B. Smith, *D. retroflexa* Winkle, *D. rigida* Strehl e *D. selloa* Baker e *D. tomentosa* Mez, que foi considerada como sinônimo de *D. retardata*. Assim, sugeriram o agrupamento de tais espécies juntamente com *D. maritima* em um complexo denominado “maritima”.

Tendo em vista a proposição de tal agrupamento, alguns caracteres comuns às espécies que o compõe podem ser mencionados, tendo como destaque suas folhas. As espécies apresentam folhas densas com suculência, em um arranjo tradicional ao gênero em forma de roseta. A coloração das folhas é verde-cinzenta com variação à avermelhada, são eretas, revolutas, longas e com presença de escamas peltadas. As margens foliares possuem espinhos com cores que podem variar de castanho avermelhado à preta (FLORA DO BRASIL, 2020). Além disso,

Troleis (2018) buscou aprofundar o conhecimento das características foliares do grupo, sendo um trabalho importante para o avanço no entendimento não só de sua morfologia, mas também das relações entre as espécies e a solidificação e adequação do grupo como um complexo com maior coerência e embasamento.

Considerando que a própria proposição do “*complexo maritima*” é recente, e, ainda, que o grupo possui uma abrangência restrita ocupando posição geográfica limitada, atenção merece ser dada visando maiores esclarecimentos das relações intraespecíficas do “complexo”, tanto do ponto de vista conceitual como de suas aplicações evolutivas, e a sua delimitação como um grupo coeso.

#### 1.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANATÔMICA

A caracterização e a análise morfológica e anatômica sempre foram fundamentais para o estudo das plantas, destacando-se entre as áreas existentes para a sua compreensão, e contribuem para diversas finalidades: organização taxonômica, compreensão da ecologia e fisiologia da planta alvo, dentre outras. Com as Bromeliaceae não é diferente.

A caracterização anatômica dos órgãos vegetativos de Bromeliaceae é uma linha de pesquisa amplamente estudada, com a anatomia foliar possuindo grande importância. Nesse sentido, muitos trabalhos foram realizados, desde obras tradicionais e clássicas como Tomlinson (1969) e Robinson (1969), até obras mais recentes: Proença e Sajo (2004); Scatena e Segecin (2005); Dettke e Millaneze-Gutierrez (2008); Troleis (2018); dentre outras.

Outros estudos abordando a morfologia concentram-se, por exemplo, nas escamas peltadas presentes nas folhas de espécies de Bromeliaceae (MANTOVANI; IGLESIAS, 2005; STREHL, 1983; VANDARAJAN; GILMARTIN, 1987), ou ainda nas raízes dos indivíduos (BENZING, 2000; PITA; MENEZES, 2002). Tais exemplos ilustram o enfoque que tem sido dado, historicamente, à parte vegetativa da família.

Quanto à morfologia e anatomia reprodutiva, um número menor de estudos foi realizado. Em se tratando de anatomia floral, podem ser citados os trabalhos de Kulkarni e Pai (1982) e Sajo, Prychid e Rudall (2004a). Já Brown e Gilmartin (1984; 1989), Sajo, Prychid e Rudall (2004b), Magalhães e Mariath (2012), Kuhn (2015) e Nogueira (2015) apresentaram estudos referentes a estruturas reprodutivas. Por fim,

Segecin e Scatena (2004), Proença e Sajo (2008) e Nogueira (2017) abordaram a arquitetura das inflorescências, órgão de grande relevância na família, enquanto Sajo *et al.* (2005) e Carvalho *et al.* (2016) se concentraram no androceu.

Importante salientar que os caracteres reprodutivos possuem uma maior confiabilidade para interpretações filogenéticas e mesmo para compreensão da evolução em grupos de plantas por apresentarem maior estabilidade morfológica quando comparados com os caracteres vegetativos (ENDRESS, 2005; TOBE, 1989). Neste contexto, estudos sobre a morfoanatomia dos grãos de pólen são excelentes para caracterização de grupos de angiospermas e são tradicionalmente estudados, estando frequentemente presentes na literatura.

O grão de pólen é notável por várias razões. Sua parede, a esporoderme, possui esporopolenina, um composto fundamental para a sobrevivência e preservação dos grãos de pólen, por resistir à degradação por substâncias químicas, bactérias e fungos, além de reduzir a dessecação, fator que contribuiu efetivamente para a conquista do ambiente terrestre pelas plantas. Tal composto também apresenta excelente preservação em sedimentos, estando frequentemente presente no registro fóssil, sendo de inestimável valor para estudos na área da paleobotânica (JUDD *et al.*, 2009). Além disso, o grão de pólen não é apenas um produto importante de um órgão da planta, mas encerra em si, quando maduro, a própria geração gametofítica masculina (HAFIDH; FILA; HONY, 2016; JUDD *et al.*, 2009; MARIATH; SANTOS; BITTENCOURT, 2006).

Além da resistência conferida pelo isolamento do conteúdo interno do microgametófito em relação ao meio externo, a esporoderme é bastante complexa, apresentando diferentes arranjos e ornamentações específicas. Punt *et al.* (2007) e Hesse *et al.* (2009) buscam resumir de modo didático a organização básica dos componentes da parede do grão de pólen. Em sua divisão mais básica, ela é composta de exina, a camada mais externa, e intina, a camada mais interna. A exina possui variadas subdivisões, cada uma com características específicas. Por outro lado, a intina é considerada como mais homogênea (HESSE *et al.*, 2009).

A exina geralmente possui rica ornamentação. Análises desta camada, principalmente em nível ultraestrutural, têm propiciado dados para taxonomia, ajudando a delimitar gêneros que são muito similares (BARFUSS *et al.*, 2005; BARFUSS *et al.*, 2016; BENZING, 2000; HALBRITTER, 1992; LEME; HALBRITTER; BARFUSS, 2017; SANTOS-TEIXEIRA *et al.*, 2020). No entanto, a caracterização da

parte externa da esporoderme nem sempre é uma tarefa simples. Apesar da grande utilidade na análise deste caráter para fins taxonômicos, a falta de padronização no uso de termos e conceitos aplicados a sua interpretação prática, devido à variabilidade e riqueza de informações nela contidas, são dificultadores importantes à sua compreensão (ERDTMAN, 1952; HESSE *et al.*, 2009).

Com a finalidade de contribuir para a organização terminológica, algumas publicações merecem destaque. Dentre elas, o trabalho referência básica em palinologia de Punt *et al.* (2007), que apresenta um glossário bastante detalhado da terminologia utilizada para a descrição da esporoderme e proporciona excelente fundamento para a prática na análise do grão de pólen. De maneira complementar, o trabalho de Hesse *et al.* (2009) auxilia grandemente na busca pela caracterização da esporoderme, porém com um enfoque mais prático e voltado às suas características principais, contribuindo sobremaneira para a aplicação terminológica para casos em que não se busca descrição extremamente pormenorizada e exaustiva.

Outra fonte de dados importante que visa padronizar os usos terminológicos bem como centralizar informações de resultados obtidos em estudos palinológicos é o Banco de Dados em Palinologia (PalDat, Palynological Database; <http://www.paldat.org>). Trata-se de uma base digital que busca coletar e organizar diferentes resultados e tornar público e diretamente acessível o conhecimento existente sobre a parede dos grãos de pólen, permitindo maior facilidade em realizar comparações entre grupos já estudados. Busca-se assim a conjugação de esforços para a construção integrada de conhecimento em palinologia. O banco de dados foi criado e é mantido por membros da University of Vienna (PALDAT, 2000).

Com base em tais trabalhos, como principais características da exina do grão de pólen, relevantes para estudos com finalidade taxonômica e de abordagem comparativa entre diferentes indivíduos, destacam-se: polaridade, simetria, unidade de dispersão, forma, tamanho, número e tipo de aberturas, e ornamentação geral da exina (HESSE *et al.*, 2009; JUDD *et al.*, 2009; PUNT *et al.*, 2007).

Como nota, Halbritter e Hesse (1993) e Nepi e Franchi (2000) salientam que o grão de pólen pode sofrer modificação em seu tamanho e forma, devido à desidratação de sua parte externa quando da dispersão do pólen, após a deiscência da antera, ocasionada por mudança conformacional na esporoderme. Tal processo é nomeado como harmomegátia e os trabalhos mencionados apresentam em detalhes a diferença gerada pela desidratação, reportando importância em conhecer o

fenômeno, bem como estimulando ainda a análise de grãos de pólen antes e depois da desidratação.

Na família Bromeliaceae, destaca-se o estudo abrangente da esporoderme de Halbritter (1992), sendo referência primordial para a análise e compreensão da exina do microgametófito. Além disso, apresenta a margem do sulco como um caráter importante dentro da família Bromeliaceae. Por outro lado, o trabalho foi elaborado tendo como base a divisão filogenética anterior, anteriormente mencionada, e as alterações decorrentes dos estudos com técnicas de análise molecular devem ser consideradas para a correta interpretação dos resultados nele apresentados. Ainda outros trabalhos utilizam o grão de pólen como referência para o entendimento da família, tanto em trabalhos de base (ERDTMAN, 1952; SALGADO-LABOURIAU, 1973), como em trabalhos mais recentes (BARFUSS *et al.*, 2016; LEME; HALBRITTER; BARFUSS, 2017; SANTOS-TEIXEIRA *et al.*, 2020).

A morfologia externa do grão de pólen do gênero *Dyckia* tem sido pouco estudada. Exemplo disso é o trabalho acima mencionado (HALBRITTER, 1992), um dos mais abrangentes em análise da ultraestrutura da esporoderme na família Bromeliaceae. Em tal trabalho, apenas quatro espécies do gênero *Dyckia* foram amostradas, dentre as 338 analisadas, sendo nenhuma delas pertencente ao “*complexo maritima*”. Outro exemplo da pouca atenção dada ao gênero é que sua presença no banco de dados em palinologia (PALDAT, 2000) está restrita a 12 espécies, dentre as 161 que compõem o grupo, ainda que o gênero corresponda ao sétimo maior dentro da família Bromeliaceae. Em tal banco de dados, são encontradas três espécies pertencentes ao “*complexo maritima*”: *D. hebdingii*, *D. maritima* e *D. retroflexa*.

O grão de pólen do “complexo” tem sido descrito como: médio; oblado; sulcado; heteropolar; e reticulado, micrroreticulado ou até perforado (HALBRITTER, 2016a; b; c). Tais características são as mesmas descritas para o gênero como um todo, e são condizentes com as descrições polínicas para a subfamília Pitcairnioideae e para a família Bromeliaceae (HALBRITTER, 1992; HALBRITTER e HESSE, 1993; HESSE *et al.*, 2009; PALDAT, 2000; SMITH; TILL, 1998).

Por outro lado, em se tratando dos estratos mais internos da exina ou mesmo da intina do grão de pólen, as pesquisas na família que têm abordado sua observação e caracterização são ainda mais limitadas (ERDTMAN, 1952; PALDAT, 2000). Para a análise das camadas internas da esporoderme é necessário o

processamento e seccionamento do grão de pólen por meio de técnicas geralmente mais extensas, tanto para observação em microscopia eletrônica como em microscopia de luz. Tais processamentos muitas vezes acarretam a perda de componentes químicos da parede ou mudança na conformação da intina e de outros estratos da esporoderme. Além disso, este tipo de análise exige interpretações que requerem maior rigor e conhecimento prévio, uma vez que as variações são sensíveis e muitas vezes não facilmente detectáveis (HESSE *et al.*, 2009).

Considerando todo o exposto, o presente trabalho tem por objeto o referido “*complexo maritima*” do gênero *Dyckia*, buscando sua melhor compreensão por meio de análise palinológica, ao observar e descrever as diferentes características da esporoderme. Para tanto, foram utilizadas técnicas que permitam uma avaliação geral e também observações mais detalhadas, quando convenientes. Assim, algumas questões poderão ser discutidas: a palinologia é eficiente para melhor circunscrever o “*complexo maritima*”? Há outros caracteres com potencial para utilização em palinologia, além daqueles tradicionalmente constantes na literatura, e que sejam úteis para o melhor entendimento do grupo estudado? A observação palinológica corrobora o estabelecimento do grupo de plantas do gênero *Dyckia* estudado em um “complexo”?

## 2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo geral analisar e comparar a morfologia da esporoderme das treze espécies do gênero *Dyckia* informalmente agrupadas como “*complexo maritima*”.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

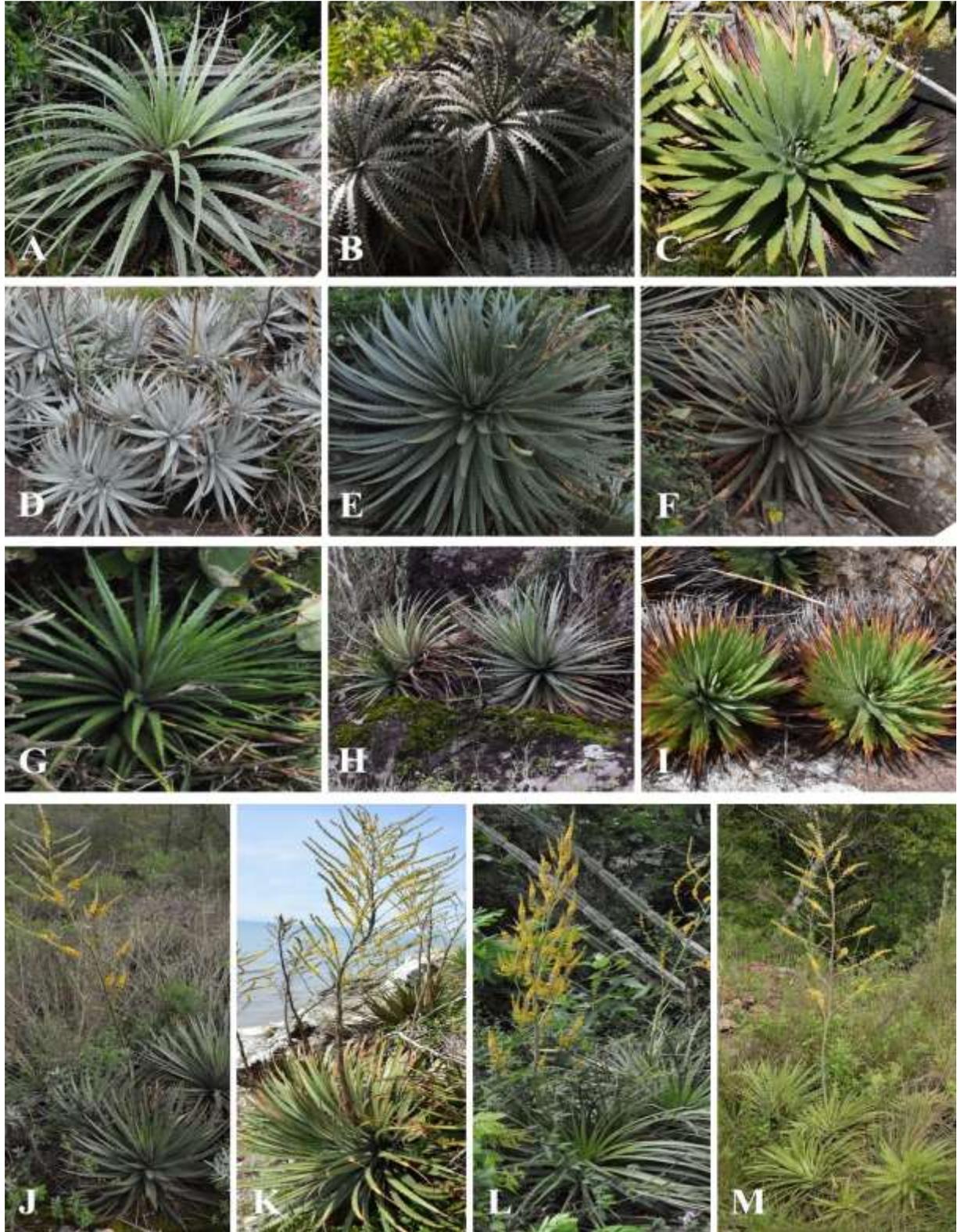
- a) identificar os sub-estratos presentes na exina e na intina das espécies amostradas;
- b) analisar as semelhanças e diferenças básicas na morfologia das camadas da exina;
- c) analisar as semelhanças e diferenças básicas na morfologia da intina;
- d) identificar características que contribuam para a discussão da circunscrição do “*complexo maritima*”, determinando a existência ou não de padrões específicos;

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL VEGETAL

Para a realização da presente pesquisa, foram utilizados representantes de treze espécies de Bromeliaceae do gênero *Dyckia*, agrupadas como “*complexo maritima*” (Figura 1). Adicionalmente, foi utilizada também a espécie *Dyckia distachya* Hassler para comparação das espécies do “complexo” como um representante externo pertencente ao gênero. As amostras estudadas foram integralmente coletadas da coleção viva pertencente ao Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVeg) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Rio Grande do Sul – Brasil). O nome completo das espécies, as sinonimizações existentes, os números de registro na Casa de Vegetação – LAVeg e os Voucher de depósito no Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN) estão descritos na Tabela 1.

Figura 1 – Espécies do gênero *Dyckia*, “complexo marítima”.



**A.** *D. agudensis*. **B.** *D. delicata*. **C.** *D. domfelicianensis*. **D.** *D. hebdingii*. **E.** *D. myriostachya*. **F.** *D. nigrospinulata*. **G.** *D. retroflexa*. **H.** *D. rigida*. **I.** *D. tomentosa*. **J.** *D. alba*. **K.** *D. marítima*. **L.** *D. selloa*. **M.** *D. polyclada*.

Fonte: Elaboração própria. Imagens cedidas por Henrique Mallmann Büneker.

Tabela 1 – Informações das espécies amostradas.

<b>Espécie</b>	<b>Sinônimo</b>	<b>Situação espécie<sup>1</sup></b>	<b>CV<sup>3</sup></b>	<b>ICN<sup>4</sup></b>
<i>Dyckia agudensis</i> Irgang & Sobral <sup>1</sup>	-	Aceita	1374	188075
<i>Dyckia alba</i> Winkler <sup>1</sup>	-	Aceita	1326	188076
<i>Dyckia delicata</i> Larocca & Sobral <sup>1</sup>	-	Aceita	1322	188077
<i>Dyckia domfelicianensis</i> T.Strehl <sup>1</sup>	-	Aceita	1370	188078
<i>Dyckia hebdingii</i> L.B.Sm. <sup>1</sup>	-	Aceita	1338	188079
<i>Dyckia maritima</i> Baker <sup>1</sup>	-	Aceita	1332	188080
<i>Dyckia myriostachya</i> Baker <sup>2</sup>	Sinônimo de <i>Dyckia selloa</i> <sup>1</sup>	Não aceita	1323	188081
<i>Dyckia nigrospinulata</i> T.Strehl <sup>1</sup>	-	Aceita	1316	188082
<i>Dyckia polyclada</i> L.B.Sm. <sup>1</sup>	Sinônimo de <i>Dyckia tomentosa</i> <sup>2</sup>	Aceita	1375	188083
<i>Dyckia retroflexa</i> Winkler <sup>1</sup>	-	Aceita	1318	188087
<i>Dyckia rigida</i> T.Strehl <sup>1</sup>	-	Aceita	1334	188084
<i>Dyckia selloa</i> (K. Koch bis) Baker <sup>1</sup>	-	Aceita	1372	188085
<i>Dyckia tomentosa</i> Mez <sup>2</sup>	Sinônimo de <i>Dyckia maritima</i> <sup>1</sup>	Não aceita	1319	188086
<i>Dyckia distachya</i> Hassl. <sup>1</sup>	-	Aceita	0912	187471

<sup>1</sup> Gouda e Butcher (2020).

<sup>2</sup> *Dyckia* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB46212>>. Acesso em: 04 Mar. 2020.

<sup>3</sup> Número de registro na casa de vegetação LAVeg.

<sup>4</sup> Voucher de depósito em herbário.

Fonte: Elaboração própria.

### 3.2 CARACTERES PALINOLÓGICOS E CITOLÓGICOS ANALISADOS

Para as descrições foi utilizado o trabalho de Hesse *et al.* (2009) como referência básica, buscando-se assim uma utilização terminológica padronizada e conseqüentemente permitindo comparações entre os resultados aqui obtidos com os de outros trabalhos produzidos pela comunidade científica. Adicionalmente, foi utilizado como o trabalho de Halbritter e Hesse (1993), que enfatiza a análise dos grãos de pólen de monocotiledôneas, levando em conta a proposição nomenclatural básica proposta, que concentra a atenção nas características específicas da(s) abertura(s) da exina com o restante da camada e o padrão de variações encontradas na família. Ainda, foi utilizada a tipologia da margem da abertura proposta por Halbritter (1992).

De maneira suplementar, visando preencher eventuais lacunas nomenclaturais não contempladas pelos trabalhos acima mencionados, foi utilizado o glossário proposto por Punt *et al.* (2007).

Os caracteres qualitativos e quantitativos previamente estabelecidos para análise estão descritos na matriz de caracteres morfoanatômicos – Tabela 2. Naturalmente, eventuais observações de características relevantes adicionais, não especificadas previamente, serão apresentadas na seção de resultados e discussão. Os critérios e justificativas em cada um dos itens constantes na Tabela 2 estão devidamente referenciados, exceto os itens: espessura da exina e extensão máxima dos lumes do retículo na região polar proximal, que não possuem referência teórica como embasamento e que serão abaixo considerados. Além destes, seguem algumas considerações também acerca da metodologia e critérios adotados para obtenção dos dados quantitativos e dos padrões de ornamentação previamente estipulados. Todas as medidas foram realizadas com número amostral 10 ( $n=10$ ).

Tabela 2 – Matriz de caracteres morfoanatômicos.

<b>Caráter</b>	<b>Estado de caráter / Unidade de medida</b>
Forma <sup>1,4</sup>	(1) Oblado / (2) Esferoidal / (3) Prolado / (4) Outro
Polaridade <sup>1</sup>	(1) Isopolar / (2) Heteropolar
Tipo de sulco <sup>2</sup>	(1) Simples / (2) Difuso / (3) Insular / (4) Opercular / (5) Outro
Tipo de margem <sup>3</sup>	(1) <i>Puya</i> / (2) <i>Outra</i>
Ornamentação <sup>4</sup>	(1) Microrreticulado / (2) Reticulado / (3) Reticulado com grânulos livres ou Birreticulado / (4) Reticulado com regiões com descontinuidades no retículo / (5) Reticulado com generalizada descontinuidade no retículo / (6) Outro
Espessura da nexina (N)	µm
Espessura do Infrateto (I)	µm
Espessura do semiteto (T)	µm
Espessura da sexina (S)	µm
Espessura da exina (H)	µm
Razão N/H	Número absoluto
Razão S/H	Número absoluto
Razão I/S	Número absoluto
Razão T/S	Número absoluto
Comprimento do eixo polar (P) <sup>1,4</sup>	µm
Comprimento do diâmetro equatorial maior (E) <sup>1,4</sup>	µm
Comprimento do diâmetro equatorial menor (e) <sup>1,4</sup>	µm
Razão e/E <sup>4</sup>	Número absoluto
Razão P/E <sup>1,4</sup>	Número absoluto
Extensão máxima dos lumes do retículo na região polar proximal	µm

<sup>1</sup> Hesse *et al.* (2009).

<sup>2</sup> Halbritter e Hesse (1993).

<sup>3</sup> Halbritter (1992).

<sup>4</sup> Punt *et al.* (2007).

Fonte: Elaboração própria.

a) Ornamentação: seguindo Punt *et al.* (2007), o caráter possui inúmeros estádios. Por esta razão e buscando concisão, foram indicadas na Tabela 2 apenas aquelas observadas nas espécies amostradas em análises preliminares.

b) Espessuras dos sub-estratos da exina: o caráter foi considerado por terem sido inferidas variações por meio de uma observação qualitativa preliminar. Foram medidas as espessuras de cada sub-estrato componente da exina individualmente. As medidas foram realizadas da base da nexina, em contato com a intina, ao seu extremo, em contato com a columela, para obtenção da espessura da nexina (N); da base da columela, em contato com a nexina, ao extremo da columela, em contato

com o semiteto, para obtenção da espessura do infrateto (I); e da base do teto, em contato com a columela, ao extremo do teto, para obtenção da espessura do semiteto (T). A soma das medidas representa a espessura total da exina (H). A soma das medidas da columela e do semiteto representa a espessura da sexina (S). As medidas foram realizadas em grão de pólen em seção, quando observado sob microscopia de fluorescência, após tratamento com o reagente Auramina O.

c) Relações dos sub-estratos: Foi calculada a razão da média da espessura da nexina (N) pela média da espessura total da exina (H) (razão N/H) e a razão da média da espessura da sexina (S) pela média da espessura total da exina (H) (razão S/H) para conhecimento em número absoluto da contribuição da nexina e sexina na composição total da exina. Foi calculada também a razão da média da espessura do infrateto (I) pela média da espessura da sexina (S) (razão I/S) e a razão da média da espessura do semiteto (T) pela média da espessura da sexina (S) (razão T/S) para conhecimento em número absoluto da contribuição da columela e do semiteto na composição total da sexina. Tais relações não foram consideradas estatisticamente, pois são todas razões entre duas medidas que foram consideradas estatisticamente. Sua utilização para esta finalidade nada mais seria do que uma sobreposição de dados.

d) Eixo polar (P): A medida foi realizada da parte mais externa intina na região mediana da abertura (polo distal) à parte mais externa da exina da parede oposta à abertura (polo proximal), perpendicularmente ao diâmetro equatorial maior e ao diâmetro equatorial menor e passando por eles, em grão de pólen inteiro em vista equatorial, sob microscopia de luz em campo claro.

e) Comprimento do diâmetro equatorial maior (E): A medida foi realizada da parte mais externa da exina de uma parede à parte mais externa da exina de sua parede oposta, na região com a maior distância entre paredes do grão de pólen, perpendicularmente ao eixo polar e ao diâmetro equatorial menor e passando por eles, em grão de pólen inteiro em vista polar, sob microscopia de luz em campo claro. O comprimento do diâmetro equatorial maior correspondeu também ao tamanho do grão de pólen.

f) Comprimento do diâmetro equatorial menor (e): A medida foi realizada da parte mais externa da exina de uma parede à parte mais externa da exina de sua parede oposta, na região com a maior distância entre paredes do grão de pólen, perpendicularmente ao diâmetro equatorial maior e ao eixo polar e passando por

eles, em grão de pólen inteiro em vista polar, sob microscopia de luz em campo claro.

g) Razão P/E: Razão entre as médias das medidas obtidas do eixo polar (P) pelo diâmetro equatorial maior (E) (HESSE *et al.*, 2009; PUNT *et al.*, 2007). O caráter não foi utilizado para fins estatísticos, por motivo semelhante ao indicado no item “c”. Trata-se de uma razão entre duas medidas que foram consideradas estatisticamente. Sua utilização para esta finalidade também seria apenas uma sobreposição de dados.

h) Razão e/E: Razão entre as médias das medidas obtidas do diâmetro equatorial menor (e) pelo diâmetro equatorial maior (E). O caráter não foi utilizado para fins estatísticos, pelo mesmo motivo indicado nos itens “c” e “f”.

i) Extensão máxima dos maiores lumes do retículo na região polar proximal: A medida foi realizada para discriminar ornamentação reticulada ou microrreticulada (PUNT *et al.*, 2007). Foram medidas as extensões dos dez maiores lumes do retículo, independentemente de qualquer orientação pré-fixada, em dez grãos de pólen de cada espécie amostrada (n=10). A região polar proximal foi a utilizada por apresentar menor variação no tamanho dos lumes. Muitos grãos de pólen apresentam uma diminuição do tamanho dos lumes em regiões mais próximas à abertura, quando comparada ao restante do grão de pólen. Esta estratégia visou estabelecer um critério para a definição do tipo de ornamentação além de uma avaliação subjetiva, e buscou contornar a grande variação nas extensões dos lumes do retículo (como exemplo, ver Figura 3F), o que dificulta a discriminação ao seguir a definição adotada por Punt *et al.* (2007).

No presente trabalho se optou pela não utilização do tradicional método de acetólise (ERDTMAN, 1952) ou o método de acetólise láctica (ACLAC) (FAEGRI ; IVERSEM, 1950; RAYNAL; RAYNAL, 1971) para análise palinológica das espécies amostradas, apesar de os métodos possibilitarem boas condições para algumas análises do grão de pólen, além de algumas medidas específicas. Logo, optou-se pela utilização de metodologias que proporcionaram a preservação de todas as estruturas do grão de pólen como um todo, acetólise resistentes e não acetólise resistentes inclusive o seu tamanho e forma. Assim, se buscou a preservação de todas as características de modo que as observações e análises refletissem o grão de pólen em seu estado natural. Os métodos com acetólise são bastante efetivos em

isolar e preservar a exina. No entanto, são também agressivos às demais estruturas, causando alteração delas ou mesmo sua perda (HESSE; WAHA, 1989).

### 3.3 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para a análise das camadas externas da exina, foram utilizadas as técnicas recomendadas por Helbritter (1998) e Hesse *et al.* (2009). Anteras maduras foram extraídas de botões florais em pré-antese e imediatamente desidratadas em solução de 2,2 dimetoxipropano (DMP), por 30 min, com troca por nova solução de DMP, onde foram mantidas por pelo menos 24 h. A pré-antese foi a fase de desenvolvimento floral escolhida visando a minimização dos efeitos da harmomegata, ou seja, da desidratação e mudança na forma e tamanho do grão de pólen, garantindo a presença de grãos de pólen desidratados e não desidratados. Por esta razão, foi realizado o processamento das anteras inteiras. Posteriormente, as anteras foram transferidas para solução de acetona a 100%.

O material desidratado passou por secagem em aparelho de ponto crítico BAL-TEC CPD 030 Critical Point Dryer (GERSTERBERGER; LEINS, 1978). As anteras foram então abertas e os grãos de pólen liberados e depositados sobre porta amostras cilíndricos de alumínio - “*stubs*” – previamente revestidos com fita condutiva dupla-face de carbono. Finalmente, as amostras foram recobertas com uma película de 10 a 15 nm de ouro, em metalizador do tipo “sputtering” BAL-TEC SPD 050. A análise das amostras e a captura das imagens foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 6060, sob 10 kV.

### 3.4 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA DE CAMPO CLARO, CONTRASTE INTERFERENCIAL E FLUORESCÊNCIA

Para a análise da intina e dos estratos internos da exina dos grãos de pólen, anteras maduras foram extraídas de botões florais em pré-antese e imediatamente imersas em solução fixadora contendo glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão de fosfato de sódio 0,1 M com pH 7,2 (McDOWELL; TRUMP, 1976), à temperatura ambiente.

Os procedimentos de lavagem e desidratação das amostras foram realizados seguindo o protocolo descrito por Russin e Trivett (2001), em equipamento de micro-ondas PELCO bioWave® Pro MW, equipado com um PELCO Cold Pro® e câmara de vácuo PELCO TissueVac®, sob temperatura máxima de 35 °C e potência de 150 W. As amostras, durante todo o procedimento, foram mantidas no interior da câmara de vácuo contendo água líquida e gelo, para minimizar o aumento de temperatura. Assim, as anteras fixadas foram lavadas em solução-tampão de fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2, três vezes, por 60 s cada, e desidratadas em série crescente de etanol (10, 30, 50, 70, 92, 100 e 100% v/v), por 1 min em cada etapa.

À temperatura ambiente, as amostras foram transferidas para uma solução de pré-infiltração, uma mistura (1:1 v/v) de etanol absoluto e resina acrílica a base de 2-hidroxietil metacrilato (Technovit® 7100, Kuzler) por duas horas e, em seguida, embebidas em resina acrílica pura pelo período mínimo de 12 h (GERRITS; SMITH, 1983). Após polimerização em resina acrílica, em moldes de cerca de 1 cm<sup>3</sup>, seções de 2 µm de espessura foram obtidas em micrótopo de rotação Leica RM2265, equipado com navalha descartável de aço (*“high profile”*). As seções obtidas foram aderidas em lâminas histológicas de vidro, sobre placa aquecida a 60 °C.

Em seguida, algumas seções obtidas foram coradas em solução aquosa de Azul de Toluidina O 0,1%, pH 4,4 (O'BRIEN; MCCULLY, 1981), por aproximadamente 2 min, seguidos de lavagem em água destilada. Outras seções foram mantidas sem coloração. Seções coradas e não coradas foram cobertas com lamínula de vidro em água destilada e imediatamente analisadas em microscópio de luz, com sistema de campo claro e em contraste interferencial diferencial, respectivamente.

Para análise sob microscopia de fluorescência, seções foram tratadas em solução aquosa de Calcofluor White M2R 0,01%, por 1 min, seguido de lavagem em água destilada, para identificação de celulose (HUGHES; MCCULLY, 1975); outras seções foram tratadas com Auramina O 0,01% em 0.05 M de tampão tris-HCL, por 1 min, seguido de lavagem em água destilada, para localização da esporopolenina (EVANS *et al.*, 1992; NEPI; FRANCHI, 2000). As seções foram cobertas com lamínula de vidro, contendo uma gota de água destilada, e imediatamente analisadas sob microscópio de fluorescência, usando filtro Leica DM A (PN513804; BP 340-380 nm, DM 400 nm, LP 425 nm), para amostras tratadas com Calcofluor

White, e filtro Leica DM I3 (PN513808; BP 450-490 nm, DM 510 nm, LP 515 nm), para amostras tratadas com Auramina O.

A análise das amostras e registros fotomicrográficos foram realizados em microscópio Leica DMR HC com os sistemas de campo claro, contraste interferencial diferencial e fluorescência, equipado com câmera digital Zeiss Axiocam HCr.

### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os caracteres morfológicos estimados (qualitativos e quantitativos) foram utilizados para a elaboração de uma matriz. A codificação dos dados está expressa na Tabela 2 que possui vinte caracteres, e os critérios para sua codificação estão referenciados ou foram descritos acima.

Em todos os dados quantitativos foram realizadas estatísticas descritivas simples: média, desvio padrão, coeficiente de variação, erro padrão e mediana; e realizada avaliação da significância das diferenças encontradas por meio do teste ANOVA. Posteriormente, foi realizada análise multivariada com a finalidade de discriminar grupos/espécies entre os indivíduos amostrados, por meio de uma análise discriminante (DA) utilizando-se os dados quantitativos que diferiram significativamente. Sendo assim, o total de caracteres efetivamente utilizados para fins estatísticos é de nove: comprimento do eixo polar (P), comprimento do diâmetro equatorial maior (E), comprimento do diâmetro equatorial menor (e), espessura da nexina (N), espessura do infrateto (I), espessura do semiteto (T), espessura da sexina (S), espessura total da exina (H) e extensão máxima dos lumes do retículo (L).

Os caracteres com variação não incluídos na análise estatística foram: razão P/E, razão e/E, razão N/H, razão S/H, razão I/S e razão T/S, pelos motivos já informados.

Ainda, foi realizada uma análise de agrupamento por meio de um dendrograma, utilizando-se todos os caracteres com variação, paramétricos e não paramétricos. Para os dados quantitativos (paramétricos), foram utilizados os valores de mediana.

As análises estatísticas multivariadas foram realizadas utilizando o pacote SPSS versão 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

Tabela 3 – Caracteres que apresentaram variação. A) Medidas (em  $\mu\text{m}$ ) do material analisado (n=10): 1. média ( $\bar{x}$ ) e desvio padrão (s) do comprimento do eixo polar (P), comprimento do diâmetro equatorial maior (E), comprimento da diâmetro equatorial menor (e), espessura da nexina (N), espessura do infrateto (I), espessura do semiteto (T), espessura da sexina (S), espessura da exina (H) e extensão máxima dos lumes do retículo (L). 2. Números absolutos da Razão P/E, razão e/E, razão N/H, razão S/H, razão I/S e razão T/S. B) Observação qualitativa da margem da abertura (A) e ornamentação da exina (B), conforme descrito na Tabela 2.

Espécie	P		E		e		P/E	e/E	N		I		T		S		H		N/H	S/H	I/S	T/S	L		A	B
	Medidas	$\bar{x}\pm s$	Medidas	$\bar{x}\pm s$	Medidas	$\bar{x}\pm s$			Medidas	$\bar{x}\pm s$					Medidas	$\bar{x}\pm s$										
<i>D. agudensis</i>	15.7-18.3	16.8 $\pm 0.8$	22.1-26.2	23.6 $\pm 1.1$	18.2-21.3	20.1 $\pm 1.0$	0.71	0.85	0.18-0.27	0.22 $\pm 0.02$	0.29-0.38	0.34 $\pm 0.03$	0.18-0.24	0.22 $\pm 0.02$	0.47-0.62	0.55 $\pm 0.04$	0.67-0.89	0.77 $\pm 0.06$	0.28	0.71	0.61	0.38	0.36-0.52	0.45 $\pm 0.05$	1	1
<i>D. alba</i>	19.0-23.3	21.2 $\pm 1.3$	25.6-28.3	26.4 $\pm 0.8$	19.8-24.2	21.5 $\pm 1.3$	0.80	0.81	0.21-0.27	0.24 $\pm 0.02$	0.29-0.44	0.37 $\pm 0.05$	0.20-0.32	0.25 $\pm 0.04$	0.51-0.76	0.62 $\pm 0.07$	0.72-1.03	0.86 $\pm 0.09$	0.28	0.71	0.59	0.40	0.86-1.43	1.13 $\pm 0.19$	2	3
<i>D. delicata</i>	19.0-20.5	19.9 $\pm 0.4$	24.3-28.4	26.1 $\pm 1.3$	19.4-20.7	19.8 $\pm 0.4$	0.77	0.76	0.19-0.24	0.21 $\pm 0.02$	0.23-0.33	0.29 $\pm 0.03$	0.18-0.22	0.20 $\pm 0.01$	0.41-0.54	0.49 $\pm 0.04$	0.60-0.75	0.71 $\pm 0.04$	0.29	0.70	0.58	0.41	0.72-1.11	0.90 $\pm 0.14$	2	1
<i>D. domfelicianensis</i>	17.5-20.9	19.3 $\pm 1.0$	25.7-22.0	23.9 $\pm 1.0$	19.0-20.3	19.6 $\pm 0.3$	0.81	0.82	0.20-0.26	0.22 $\pm 0.02$	0.25-0.44	0.31 $\pm 0.06$	0.18-0.29	0.23 $\pm 0.04$	0.43-0.73	0.55 $\pm 0.09$	0.63-0.95	0.76 $\pm 0.10$	0.28	0.71	0.57	0.42	0.85-1.38	1.0+ $\pm 0.17$	1	2
<i>D. hebdingii</i>	20.1-22.4	21.2 $\pm 0.8$	26.5-30.7	28.0 $\pm 1.1$	19.3-22.3	20.6 $\pm 1.0$	0.76	0.74	0.17-0.25	0.22 $\pm 0.03$	0.25-0.39	0.32 $\pm 0.04$	0.19-0.26	0.22 $\pm 0.02$	0.47-0.61	0.54 $\pm 0.05$	0.64-0.85	0.77 $\pm 0.07$	0.29	0.71	0.59	0.40	0.95-1.77	1.19 $\pm 0.25$	1	2
<i>D. maritima</i>	20.1-22.8	21.8 $\pm 0.8$	23.0-26.5	25.1 $\pm 0.9$	18.9-21.6	20.7 $\pm 0.8$	0.87	0.83	0.24-0.40	0.29 $\pm 0.05$	0.23-0.45	0.31 $\pm 0.08$	0.21-0.41	0.29 $\pm 0.05$	0.46-0.82	0.60 $\pm 0.12$	0.70-1.13	0.89 $\pm 0.14$	0.32	0.67	0.52	0.48	0.48-0.96	0.65 $\pm 0.15$	1	1
<i>D. myriostachya</i>	19.3-20.9	20.4 $\pm 0.5$	24.7-29.9	26.8 $\pm 1.3$	18.3-20.7	19.8 $\pm 0.7$	0.76	0.74	0.18-0.32	0.23 $\pm 0.04$	0.22-0.34	0.27 $\pm 0.04$	0.21-0.31	0.25 $\pm 0.03$	0.45-0.65	0.52 $\pm 0.06$	0.63-0.92	0.75 $\pm 0.09$	0.31	0.69	0.51	0.48	1.12-1.55	1.32 $\pm 0.17$	1	4
<i>D. nigrospinulata</i>	17.6-20.3	19.2 $\pm 0.8$	22.4-25.7	24.0 $\pm 1.1$	19.1-20.4	19.7 $\pm 0.4$	0.80	0.82	0.19-0.28	0.24 $\pm 0.03$	0.18-0.25	0.22 $\pm 0.03$	0.19-0.29	0.25 $\pm 0.04$	0.40-0.52	0.47 $\pm 0.04$	0.60-0.78	0.71 $\pm 0.06$	0.33	0.66	0.46	0.53	0.78-1.18	1.02 $\pm 0.13$	2	2
<i>D. polyclada</i>	19.7-25.8	21.9 $\pm 1.8$	22.2-26.3	24.6 $\pm 1.4$	20.0-24.6	22.7 $\pm 1.4$	0.89	0.92	0.18-0.29	0.24 $\pm 0.03$	0.18-0.34	0.23 $\pm 0.05$	0.22-0.31	0.26 $\pm 0.03$	0.41-0.54	0.50 $\pm 0.06$	0.61-0.89	0.74 $\pm 0.08$	0.32	0.67	0.47	0.52	0.98-1.57	1.35 $\pm 0.30$	1	2
<i>D. retroflexa</i>	18.3-21.5	19.9 $\pm 0.9$	24.2-27.1	25.8 $\pm 1.1$	18.6-21.2	20.1 $\pm 0.8$	0.77	0.78	0.18-0.31	0.23 $\pm 0.04$	0.20-0.38	0.26 $\pm 0.07$	0.20-0.31	0.25 $\pm 0.05$	0.40-0.69	0.50 $\pm 0.10$	0.61-1.00	0.73 $\pm 0.13$	0.31	0.68	0.51	0.49	1.00-1.49	1.22 $\pm 0.19$	1	2
<i>D. rigida</i>	19.9-24.1	22.3 $\pm 1.3$	21.2-26.0	23.3 $\pm 1.4$	15.3-21.1	17.4 $\pm 1.7$	0.96	0.75	0.26-0.41	0.32 $\pm 0.05$	0.22-0.34	0.27 $\pm 0.05$	0.24-0.32	0.29 $\pm 0.03$	0.46-0.65	0.56 $\pm 0.06$	0.76-0.99	0.89 $\pm 0.09$	0.36	0.63	0.48	0.51	0.86-1.32	1.07 $\pm 0.14$	1	2
<i>D. selloa</i>	24.5-28.1	26.0 $\pm 1.0$	24.9-28.9	26.8 $\pm 1.3$	21.9-26.7	23.3 $\pm 1.1$	0.97	0.87	0.16-0.24	0.20 $\pm 0.03$	0.15-0.27	0.21 $\pm 0.03$	0.16-0.27	0.22 $\pm 0.03$	0.33-0.54	0.43 $\pm 0.06$	0.50-0.76	0.63 $\pm 0.08$	0.31	0.68	0.48	0.52	1.52-2.67	1.85 $\pm 0.32$	2	2
<i>D. tomentosa</i>	20.7-25.5	22.3 $\pm 1.3$	21.1-26.9	25.0 $\pm 1.6$	19.0-23.9	22.2 $\pm 1.4$	0.89	0.89	0.17-0.27	0.24 $\pm 0.03$	0.19-0.28	0.25 $\pm 0.03$	0.20-0.32	0.27 $\pm 0.04$	0.41-0.59	0.52 $\pm 0.05$	0.58-0.86	0.75 $\pm 0.08$	0.31	0.68	0.48	0.51	0	0	2	5
<i>D. distachya</i>	21.0-22.6	21.8 $\pm 0.5$	26.8-30.6	28.1 $\pm 1.2$	20.9-23.3	22.1 $\pm 0.8$	0.78	0.79	0.19-0.36	0.27 $\pm 0.05$	0.18-0.33	0.25 $\pm 0.05$	0.24-0.31	0.27 $\pm 0.02$	0.44-0.60	0.53 $\pm 0.06$	0.64-0.95	0.80 $\pm 0.10$	0.33	0.66	0.48	0.52	1.34-1.75	1.61 $\pm 0.12$	1	2

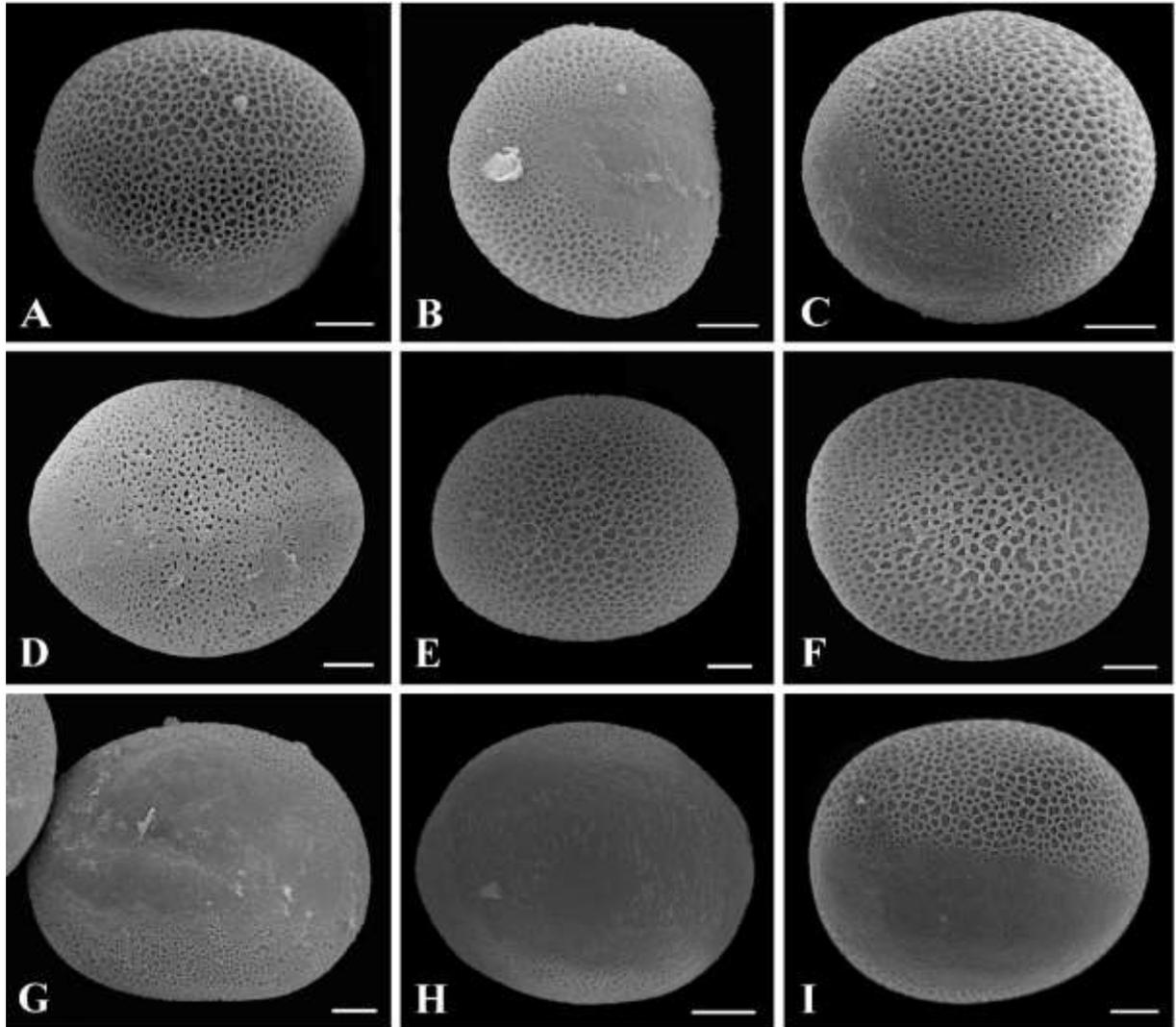
Fonte: Elaboração própria

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 MORFOLOGIA POLÍNICA: CARACTERIZAÇÃO GERAL

Os grãos de pólen das espécies amostradas apresentaram diversas características em comum. Sua caracterização geral está demonstrada na Figura 2. Segundo Hesse *et al.* (2009) os grãos de pólen analisados são heteropolares, possuem forma oblada e tamanho médio (26-50  $\mu\text{m}$ ). A identificação destes três caracteres é fundamental para a descrição geral do grão de pólen. Tais caracteres são individualizados, mas também possuem correlação. Por exemplo: a definição da forma é importante para que se estabeleça a maneira correta de fazer a medida de seu tamanho, como no caso do gênero amostrado no presente trabalho, conforme será abaixo discutido. Assim, apesar destes caracteres serem tratados individualmente, seu melhor entendimento se dará quando consideradas suas inter-relações.

Figura 2 – Aspecto geral dos grãos de pólen amostrados.



Imagens obtidas em microscopia eletrônica de varredura (MEV). **A-C.** Vista equatorial. **(A)** *D. alba*. **(B)** *D. rigida*. **(C)** *D. hebdingii*. **D-F.** Vista polar proximal. **(D)** *D. agudensis*. **(E)** *D. domfelicianensis*. **(F)** *D. selloa*. **G-I.** Vista polar distal, evidenciando sulco do tipo simples. **(G)** *D. myriostachya*. **(H)** *D. rigida*. **(I)** *D. alba*. Barras: 5  $\mu\text{m}$ .

Fonte: Elaboração própria.

O tamanho do grão de pólen pode não ser de simples obtenção. De um modo geral, o diâmetro é utilizado para aferição da medida (HESSE *et al.*, 2009). No entanto, as formas que os grãos de pólen possuem podem ser as mais diversas, dependendo da espécie analisada. Como mencionado acima, os grãos de pólen amostrados apresentam forma oblada. Por esta razão, o presente trabalho utilizou o diâmetro equatorial maior (E) como extensão máxima do grão de pólen.

Conforme se observa na Tabela 3, todas as espécies tiveram a medida média do diâmetro equatorial maior (E) entre 23 e 28  $\mu\text{m}$ . Seguindo Hesse *et al.* (2009), essas medidas correspondem aos tamanhos pequeno (10-25  $\mu\text{m}$ ) e médio (26-50  $\mu\text{m}$ ). Do ponto de vista quantitativo, a variação foi considerada para fins estatísticos.

No entanto, considerando que mesmo as espécies com grãos de pólen que seriam considerados pequenos possuem medidas que estão muito próximas da faixa de grãos de pólen médios, e observando a literatura (PALDAT, 2000), em que os grãos de pólen no gênero são considerados como médios, por extensão e para fins de generalização, todas as espécies amostradas foram consideradas também como possuidoras de grãos de pólen médios.

Já a forma do grão de pólen é obtida calculando-se a razão do comprimento do eixo polar (P) pelo comprimento do diâmetro equatorial maior (E) (Razão P/E), exceto em casos em que sua forma é irregular (HESSE *et al.*, 2009). Quando o comprimento do eixo polar (P) é menor do que o comprimento do diâmetro equatorial (E) e, portanto, a razão P/E é menor do que 1, a nomenclatura correspondente para a forma é “oblado”. Como se observa na Tabela 3, a razão P/E para todas espécies amostradas é menor do que 1, logo, sua forma é oblada, e em vista polar sua aparência é de uma elipse. É importante destacar que a identificação dos polos, do eixo polar e do plano equatorial é indispensável para que as medidas expressem de fato as características das estruturas amostradas. A simples realização de medidas utilizando-se critérios genéricos e descuidados podem produzir resultados e conseqüentes conclusões equivocadas do material estudado. As Figuras 2D-I demonstram alguns grãos de pólen das espécies amostradas em vista polar.

Por outro lado, a razão e/E também é menor que 1 em todas as espécies amostradas. Isso significa que também em vista equatorial sua aparência é de uma elipse. Desta forma, estão expressas todas as características da forma do grão de pólen numericamente, levando-se em conta que se trata de uma estrutura tridimensional. As Figuras 2A-C demonstram alguns grãos de pólen das espécies amostradas em vista equatorial.

Quanto à polaridade, os grãos de pólen amostrados são heteropolares. Para tal conclusão, é fundamental a identificação de seus polos e de sua região equatorial. A maneira correta de se obter a informação é observando-se a orientação espacial do micrósporo na tétrade meiótica, e pode ser examinada apenas no estágio de tétrade. No entanto, em monocotiledôneas, os grãos de pólen, de um modo geral, apresentam sua polaridade bastante definida, e as espécies amostradas

não fogem a este padrão (HESSE *et al.*, 2009, pg. 18). Esta identificação é importante também para a definição de sua forma, conforme acima descrito. Utilizando-se tal definição, se observa que a abertura dos grãos de pólen está situada em seu polo distal. Logo, considerando-se que as amostras possuem grãos de pólen em que os polos proximal e distal são diferentes, o grão de pólen é definido como heteropolar.

Outra característica relevante e comum para todas as espécies amostradas é o tipo de sua abertura. A terminologia da abertura também é definida por sua polaridade. Os grãos de pólen amostrados são sulcados, uma vez que a abertura está presente na região polar distal (HESSE *et al.*, 2009) e apresentam uma abertura alongada, que possui aproximadamente a metade do perímetro total do grão (HALBRITTER; HESSE, 1993). De maneira complementar, o tipo de sulco identificado é do tipo simples (Figura 2G-I), que é caracterizado por não possuir qualquer deposição de exina em sua superfície (HALBRITTER; HESSE, 1993). No presente trabalho se optou por não serem realizadas medidas da abertura. Essa foi a posição adotada por se atribuir possível ação do fenômeno de harmomegatia nos grãos de pólen amostrados. Tal fenômeno é amplamente descrito na literatura e é caracterizado pela alteração do tamanho e forma dos grãos de pólen dependendo de sua hidratação. Quando o grão de pólen está desidratado, apresenta um dobramento principalmente na região da abertura. Este dobramento pode ser de maior ou menor grau, dependendo do quanto desidratado está o grão de pólen. Quanto maior a desidratação, maior também seu dobramento (HALBRITTER; HESSE, 1993). Todas as medidas efetuadas no presente trabalho foram realizadas em grãos de pólen hidratados, que não tivessem sofrido dobramentos aparentes. Porém, tais medidas estão mais relacionadas com estruturas que sofrem menor impacto do fenômeno. Considerando que a primeira região a apresentar sinais de dobramento é justamente a região da abertura, níveis pequenos de desidratação provocam já alguma alteração no tamanho da abertura, ainda que sensível. Ainda que para as observações em microscopia de luz tenha sido realizada fixação das estruturas, com a utilização de fixador a base d'água (McDOWELL; TRUMP, 1976), e que portanto provoca a hidratação do grão de pólen no momento da fixação, quando observados, foram identificadas diferenças consideráveis nas medidas da abertura em análise preliminar. Assim, foi entendido como não indicada a medição

do sulco, por não haver formas de controle do grau de hidratação do grão de pólen com a metodologia adotada. Nas demais medidas, pequenas variações no nível de hidratação do grão não provocam deformações relevantes.

Os caracteres acima descritos (heteropolaridade, forma oblada, tamanho médio e sulco do tipo simples) são coerentes com descrições existentes na literatura para o gênero *Dyckia* como um todo (HALBRITTER, 1992; HALBRITTER, 2016a, b, i, n, o, q, r; SOUZA; MENDONÇA; GONÇALVES-ESTEVEES, 2004; WANDERLEY; MELHEM, 1991). Além disso, são coerentes também com descrições em outros gêneros da subfamília Pitcairnioideae. Podem ser encontrados grãos de pólen com estes mesmos caracteres nos gêneros *Encholirium* (HALBRITTER, 2017a) e *Fosterella* (HALBRITTER, 2016c), que fazem parte, juntamente com *Dyckia*, do “clado xérico” em Pitcairnioideae, o que pode dar suporte ainda maior para a proximidade parental entre os gêneros. O gênero *Deuterocohnia* apresenta os mesmos caracteres, exceto a forma, considerada como esferoidal (HALBRITTER, 2017b). Já o gênero *Pitcairnia* é aquele que apresenta as maiores diferenças quando comparado com as espécies amostradas. Os grãos de pólen são considerados grandes e seus sulcos não são do tipo simples. Porém, as demais características até aqui discutidas, são neles também observadas (HALBRITTER, 2016d; SILVA *et al.*, 2016). Por fim, digno também de destaque é que as espécies amostradas apresentam coerência com outros gêneros da família Bromeliaceae. *Brocchinia* Schult. & Schult.f., *Catopsis* Griseb., *Cottendorfia* Schult. & Schult.f., *Hechtia* Klotzsch e *Puya* Molina, possuem representantes com grãos de pólen com estes mesmos caracteres, o que, juntamente com os gêneros de Pitcairnioideae, englobam 6 das 8 subfamílias em Bromeliaceae (HALBRITTER, 1992; HALBRITTER, 2015; HALBRITTER, 2016f; g; h).

Ainda devem ser feitas algumas considerações acerca do gênero *Alcantarea* (E.Morren ex Mez) Harms. Os grãos de pólen no gênero apresentam os mesmos caracteres acima descritos (HALBRITTER, 2016e), exceto pelo sulco talvez não ser considerado do tipo simples. O termo “talvez” é aqui empregado por haver inconsistência na literatura quanto a definição do sulco no gênero. Halbritter (1992) caracteriza o sulco do gênero como “Complexo”, por considerar que sua área de germinação está concentrada na região central do sulco, uma vez que possui uma margem extensa, com esporoderme mais robusta, o que dificultaria a germinação do

tubo polínico nas margens do sulco. O nome atribuído a tal sulco/margem é do tipo “*Vriesea imperialis*”. Atualmente o nome *Vriesea imperialis* Carrière é considerado sinônimo da espécie aceita *Alcantarea imperialis* (Carriere) Harms (FLORA DO BRASIL, 2020). Assim, no presente trabalho se adota simplesmente este tipo de sulco/margem como “*Imperialis*”, minorando a possibilidade de eventuais confusões nomeclaturais. No entanto, no trabalho de Halbritter e Hesse (1993), ou seja, trabalho realizado pelo mesmo autor, no ano seguinte ao trabalho anteriormente mencionado, não houve sequer menção deste tipo de sulco. É importante destacar que o trabalho propõe uma análise completa do sulco em monocotiledôneas e menciona todos os tipos de sulco e margens descritas por Halbritter (1992), exceto o mencionado tipo “*Imperialis*”. Assim, o trabalho de Halbritter e Hesse (1993) criou uma dúvida quanto a correta conceituação do tipo de sulco observado em *Alcantarea*. Não está claro se o sulco deve ser considerado como complexo do tipo “*Imperialis*”, seguindo Halbritter (1992), ou como simples com margem do tipo “*Puya*”, seguindo os critérios adotados por Halbritter e Hesse (1993).

Esta indefinição tem aplicações práticas e extensão a outras espécies em Bromeliaceae, ou na comparação com as espécies do gênero *Dyckia* ora amostradas. Por exemplo: caso o sulco em *Alcantarea* seja considerado complexo do tipo “*Imperialis*”, conseqüentemente devem ser considerados assim os sulcos das espécies *Puya dasylirioides* Standley (HALBRITTER, 2016m) ou *Deuterocohnia meziana* Kuntze ex Mez (HALBRITTER, 2017b), o que estende tal tipologia a outras subfamílias em Bromeliaceae, além daquelas indicadas originalmente por Halbritter (1992). Além disso, matéria de interesse do presente trabalho, esse tipo de sulco no gênero *Deuterocohnia* é uma observação importante, considerando que tal gênero pertence a mesma subfamília de *Dyckia*. Por outro lado, caso o sulco observado em *Alcantarea* deva ser considerado como simples com margem do tipo “*Puya*”, significa também afirmar que este tipo de sulco pode ser observado também em gênero da subfamília Bromelioideae, uma vez que é reportado por Halbritter (1992) que o sulco dito “*Imperialis*” é encontrado no gênero *Billbergia* Thunb. Neste caso, diferente do informado anteriormente, então 7 das 8 subfamílias em Bromeliaceae apresentam os mesmos caracteres até aqui discutidos encontrados nas espécies ora amostradas. Desta forma, é importante destacar a necessidade de estudos adicionais que considerem o sulco e a relação com sua margem do ponto de vista

conceitual, e que propicie maior clareza quanto aos critérios para a caracterização inequívoca de sua tipologia.

Importante destacar que, apesar das semelhanças observadas, os trabalhos de Salgado-Labouriau (1973), Wanderley e Melhem (1991), Souza *et al.* (2004) e Silva *et al.* (2016), além de adotar metodologia diversa da utilizada no presente trabalho para finalidades semelhantes, tratam a abertura dos grãos de pólen em *Dyckia* como um “colpo”. Aqui fica expressa a dificuldade na padronização nomeclatural que ocorre em palinologia. Por não haver tal padronização, a descrição do material observado pode, muitas vezes, provocar equívocos ao entendimento. Como já mencionado, o presente trabalho utiliza, com relação aos caracteres ora abordados, os trabalhos de Halbritter e Hesse (1993) e Hesse *et al.* (2009) como referência de nomenclatura. Segundo tais trabalhos, “colpo” deve ser utilizado para uma abertura alongada situada na região equatorial do grão de pólen. Não é o caso observado nas espécies amostradas. Todos os grãos de pólen amostrados possuem abertura localizada na região polar distal. Portanto a nomenclatura correta para tais casos é “sulco” e não “colpo”. A razão para a diferença de nomenclatura utilizada observada nos trabalhos mencionados se dá, provavelmente, pela utilização do termo “colpo” de uma maneira generalizada para a abertura alongada, sem distinção da região em que ela ocorre, o que é inclusive aceito por Punt *et al.* (2007).

Por fim, há ainda uma característica comum a todas as espécies amostradas. Trata-se dos estratos da exina. A estratificação da exina claramente distinguível nas espécies amostradas possui sexina e nexina (HESSE *et al.*, 2009; NEPI; FRANCHI, 2000; PUNT *et al.*, 2007) (Figuras 4D-F). A sexina (S) apresentou uma maior espessura quando comparada à nexina (N) (Tabela 3 e Figura 4E). Estes resultados divergem daqueles obtidos por Salgado-Labouriau (1973) e Wanderley e Melhem (1991), que registram haver uma espessura semelhante entre tais estratos. No entanto, ambos trabalhos possuem uma descrição sem grandes aprofundamentos. Por outro lado, o trabalho de Souza *et al.* (2004) destaca uma maior espessura da sexina, resultado este semelhante aos aqui encontrados.

Na sexina foi observada a presença de Semiteto e Columela (Figura 4D-F). Não foram detectados elementos suprategmiais. Quanto à nexina, pode ser observada uma camada bastante uniforme (Figura 4E). No entanto, não é possível afirmar inequivocamente, com a metodologia utilizada, tratar-se da camada basal (parte da

ectexina) e/ou de endexina. Punt *et al.* (2007) mencionam a possibilidade de diferenciação da camada basal da endexina com a utilização do corante Fucsina Básica em microscopia de luz. Esta metodologia foi utilizada por Richardo e Silverio (2019) e Dettke (2009) com resultados satisfatórios. A diferenciação é possível por uma coloração mais intensa provocada pelo corante na ectexina quando comparada à endexina. Assim, toda ectexina assume uma coloração uniforme e mais consistente, enquanto a endexina assume uma coloração menos marcante, permitindo a diferenciação. No entanto, tal metodologia não foi utilizada no presente trabalho por não terem sido observados resultados satisfatórios em análises preliminares.

No presente trabalho, foi utilizado o reagente Auramina O, visando a identificação da exina (EVANS *et al.*, 1992; NEPI; FRANCHI, 2000). Tal reagente não é específico para diferenciação entre ectexina e endexina. Por este motivo, não é possível precisar qual das camadas é a observada nas espécies amostradas. Ainda assim, é importante destacar que Hesse (2000) reporta ser bastante comum não haver presença de endexina em monocotiledôneas. Além disso, conforme se observa nas Figuras 4D-E, toda a estrutura que reagiu com a Auramina O aparentemente apresenta uniformidade, semelhantemente ao observado no trabalho de Richardo e Silvério (2019) para a ectexina ao utilizar o corante Fucsina Básica. Sendo a camada basal parte da ectexina, o resultado da reação pelo reagente utilizado sendo semelhante ao semiteto e a columela poderia indicar se tratar de outro componente da ectexina (camada basal) (Figuras 4D-F). Por fim, importante ainda frisar que muitos dos trabalhos mencionados - Faegri (1956), Muller (1979), Hesse (2000), Punt *et al.* (2007) e Hesse *et al.* (2009) - destacam que a análise em microscopia eletrônica de transmissão é a metodologia mais indicada para se avaliar os estratos da exina com maior precisão, e outros trabalhos – Dettke (2009) e Southworth (1973) – mencionam a possibilidade de outros testes histoquímicos para auxílio na identificação. Assim, futuramente podem ser conduzidos estudos que tragam maior clareza a este respeito para as espécies componentes do “*complexo marítima*”.

## 4.2 MORFOLOGIA POLÍNICA: CARACTERES DISTINTIVOS

A presente seção discutirá os caracteres que apresentaram distinção entre as espécies amostradas. Considerando-se que os grãos de pólen são estruturas reprodutivas e, portanto, apresentam menor plasticidade fenotípica (TOBE, 1989; ENDRESS, 2005), aliada à proximidade parental entre as espécies amostradas (BUNEKER *et al.*, 2015; TROLEIS, 2018), assim considerada devido as suas semelhanças morfológicas e ocorrência geograficamente restrita (FLORA DO BRASIL, 2020), era de se esperar que seriam encontradas poucas variações relevantes.

De certa forma, essa expectativa de fato se confirmou no presente trabalho, pois, dos caracteres qualitativos analisados (Tabela 2), apenas dois deles apresentaram variação (Tabela 3). No entanto, as variações observadas foram bastante importantes e em caracteres relevantes: a característica da margem da abertura e a ornamentação da sexina.

A observação da margem da abertura como um caráter de importância em grãos de pólen de Bromeliaceae foi inicialmente proposta por Halbritter (1992). A partir de então, alguns trabalhos têm considerado este caráter ao analisarem diferentes grupos pertencentes à família (BARFUSS *et al.*, 2016; HALBRITTER; HESSE, 1993). No trabalho de Halbritter (1992), dois tipos de margem em sulcos simples foram propostos. Como mencionado na seção “1”, todos os grãos de pólen das espécies amostradas possuem abertura (sulco) do tipo simples. Assim, sob a perspectiva do trabalho mencionado como paradigma para a análise, os dois tipos de margem possíveis de serem encontrados são: tipo “*Puya*” – em que há uma deposição decrescente de exina na região da margem da abertura; e tipo “*Catopsis*” – em que há uma interrupção abrupta de deposição da exina na região da margem da abertura, destacando-se na observação uma linha quase que contínua e bem distinguível na margem da abertura, e sendo possível visualizar com clareza a alteração da região com deposição de exina para a região sem deposição de exina (exemplos: tipo “*Puya*”, Halbritter (2016a); tipo “*Catopsis*”, Halbritter (2016j)). Mais ainda, segundo o trabalho, a margem do tipo “*Puya*” é encontrada apenas em exemplares da subfamília Pitcairnioideae, enquanto a margem do tipo “*Catopsis*” é restrita ao gênero *Catopsis* (subfamília Tillandsioideae).

Vale destacar que o trabalho de Halbritter (1992) utiliza a divisão da família Bromeliaceae em três subfamílias. Como já exposto anteriormente, estudos posteriores com análise molecular reformularam tal organização, que teve como consequência o desmembramento da subfamília Pitcairnioideae em seis subfamílias. Assim, é necessária uma releitura do trabalho mencionado para entendimento da aplicação do uso da margem da abertura atualmente. Desta forma, a margem da abertura de sulco simples do tipo “*Puya*” é observada apenas nas atuais subfamílias: Pitcairnioideae (gêneros *Dyckia* (que tem como sinônimo *Abromeitiella* Mez), *Deuterocohnia*, *Fosterella*), Puyoideae (gênero *Puya*), Navioideae (gênero *Cottendorfia*) e Hechtioideae (gênero *Hechtia*). Já a margem do tipo “*Catopsis*” permanece como exclusivamente encontrada no gênero *Catopsis* (subfamília Tillandsioideae).

Partindo-se desta premissa, facilmente poderia ser indicado que os grãos de pólen das espécies amostradas (gênero *Dyckia* / subfamília Pitcairnioideae) possuem margem da abertura do tipo “*Puya*”. No entanto, essa suposta facilidade não recebeu amparo na observação dos grãos de pólen amostrados. Aqui não se pretende desfazer a excelente contribuição de Halbritter (1992) para a compreensão dos grãos de pólen da família, nem sequer propor que a margem da abertura não seja um caráter importante na família. O que se pretende é contribuir com a discussão visando ao aperfeiçoamento da utilização do caráter e a relativizar sua utilização pragmática, tanto do ponto de vista científico, quanto do ponto de vista prático.

Antes de demonstrar a dificuldade da identificação da tipologia da margem da abertura nas espécies amostradas, segue uma breve revisão do caráter nos gêneros já mencionados na seção “1” como possuidores de grãos de pólen com sulco simples, visando ilustrar a dificuldade em exemplos mais bem caracterizados. Para tanto é indispensável a visualização das imagens no Banco de Dados em Palinologia (Palynological Database, [www.paldat.org](http://www.paldat.org)) conforme referenciado.

Primeiramente, vejamos exemplo encontrado no próprio gênero *Dyckia*, em espécies não amostradas no presente trabalho. Ao comparar a margem da abertura das espécies *Dyckia pernambucana* L.B.Sm. (HALBRITTER, 2016a) com a espécie *Dyckia fosteriana* L.B.Sm. (HALBRITTER, 2016i) uma grande diferença é observada. Naquela a margem da abertura possui uma deposição decrescente de exina muito mais acentuada do que nesta. Ambas podem ser caracterizadas como margem do

tipo “*Puya*”, no entanto, tal caracterização sem informações complementares é insuficiente para a descrição, pois trata aberturas com características bastante diferentes de maneira igual. A discussão pode ser levada mais adiante. Ao compararmos a abertura da mencionada *Dyckia fosteriana* (HALBRITTER, 2016i) com a espécie *Catopsis floribunda* L.B.Sm. (HALBRITTER, 2016f), a diferença entre os tipos de margem não é de simples observação. É aceitável afirmar que *D. fosteriana* possui uma deposição decrescente de exina na região da abertura, porém, na espécie *C. floribunda*, a interrupção abrupta que se esperaria na deposição de exina não é claramente observada. É distinguível uma linha na região da abertura que sugere a interrupção abrupta, no entanto, apenas este elemento não é suficiente para determinar sua caracterização de maneira inequívoca como do tipo “*Catopsis*”. Neste pormenor, podemos observar a espécie utilizada como exemplo para demonstrar margem do tipo “*Catopsis*”: *Catopsis juncifolia* Mez & Wercklé (HALBRITTER, 2016j), em que há ausência desta linha na abertura, e sua caracterização do tipo de margem é realizada pela observação da clara interrupção abrupta da deposição da exina. Como mencionado, o objetivo da discussão não é o de questionar o caráter em si, mas de relativizar sua aplicação. Nos casos mencionados, há espaço para tal relativização. Seria aceitável quando feitas tais comparações, caracterizar a margem da abertura da espécie *D. fosteriana* como do tipo “*Catopsis*”, ou, se não for possível tal afirmação, ao menos a indicação de que a deposição decrescente de exina é pouco acentuada, diferente do que seria facilmente caracterizado como do tipo “*Puya*”. Da mesma forma a espécie *C. floribunda*, que talvez possa ser caracterizada como do tipo “*Puya*” ou, no mínimo, receber a informação adicional de que a interrupção não é tão abrupta como seria um exemplar facilmente caracterizado como do tipo “*Catopsis*”. Possivelmente o mais indicado seja o estabelecimento de um tipo intermediário.

Outros dois exemplos bastante importantes são as espécies *Puya floccosa* (Linden) E.Morren ex Mez (HALBRITTER, 2016h) e *Catopsis subulata* L.B.Sm. (HALBRITTER, 2016k). Ambas são exemplares de gêneros que dão nome aos tipos de margem da abertura para grãos de pólen com sulco simples. Porém, a margem da abertura da espécie *P. floccosa* é muito mais semelhante à margem do tipo “*Catopsis*”, na mesma base de argumentação acima proposta. Por outro lado, a espécie *C. subulata*, possui uma margem com definição incerta, pois, ao mesmo tempo que possui regiões em que sua caracterização seria de margem do tipo

“*Catopsis*”, na região mediana da abertura há diversos resquícios de exina, com diminuição gradual de seu aparecimento, o que, aplicado de maneira literal, deveria ser considerado como margem do tipo “*Puya*”.

Por fim, a discussão acerca do tipo de sulco encontrado no gênero *Alcantarea* se estende para a discussão da margem da abertura. Caso se considere que no gênero *Alcantarea* são encontrados sulcos do tipo simples (HALBRITTER; HESSE, 1993), então o tipo “*Imperialis*” é uma outra variação possível em sulcos simples. Neste caso, as espécies *Puya dasyliroides* (HALBRITTER, 2016m), *Fosterella windischii* L.B.Sm. & Read (HALBRITTER, 2016c) e *Deuterocohnia meiziana* (HALBRITTER, 2017b) possuem margem do tipo “*Imperialis*”. Do contrário, caso se considere que todos estes exemplos devam ser considerados como sulcos complexos, significa que há outros gêneros em Pitcairnioideae que apresentam tais sulcos além de *Pitcairnia* (HALBRITTER, 1992). Mais ainda, caso os exemplos devam ser considerados como sulcos simples com margem da abertura do tipo “*Puya*”, significa dizer que a margem do tipo “*Puya*” pode ser encontrada no gênero *Alcantarea*, ou seja, pode ser encontrada também na subfamília Tillandsioideae ou mesmo em Bromelioideae (gênero *Billbergia*) (HALBRITTER, 1992).

Importante observar que, principalmente no último exemplo, ainda que tentemos ser o mais pragmático que for possível, não há como escapar de acrescentarmos tipos ou gêneros à divisão estabelecida por Halbritter (1992). Inclusive, dependendo do grau de liberdade que utilizemos para caracterizar as margens das aberturas de alguns gêneros em tipos ainda não registrados na literatura, muitas possibilidades ficam viabilizadas. Uma sugestão do presente trabalho é que futuramente seja realizada uma revisão do caráter na família, considerando que foi proposto há quase 30 anos e é utilizado em trabalhos de vulto (BARFUSS *et al.*, 2016). Em tal revisão, pode ser necessário, como mencionado, tipos intermediários, para casos em que a caracterização seja imprecisa.

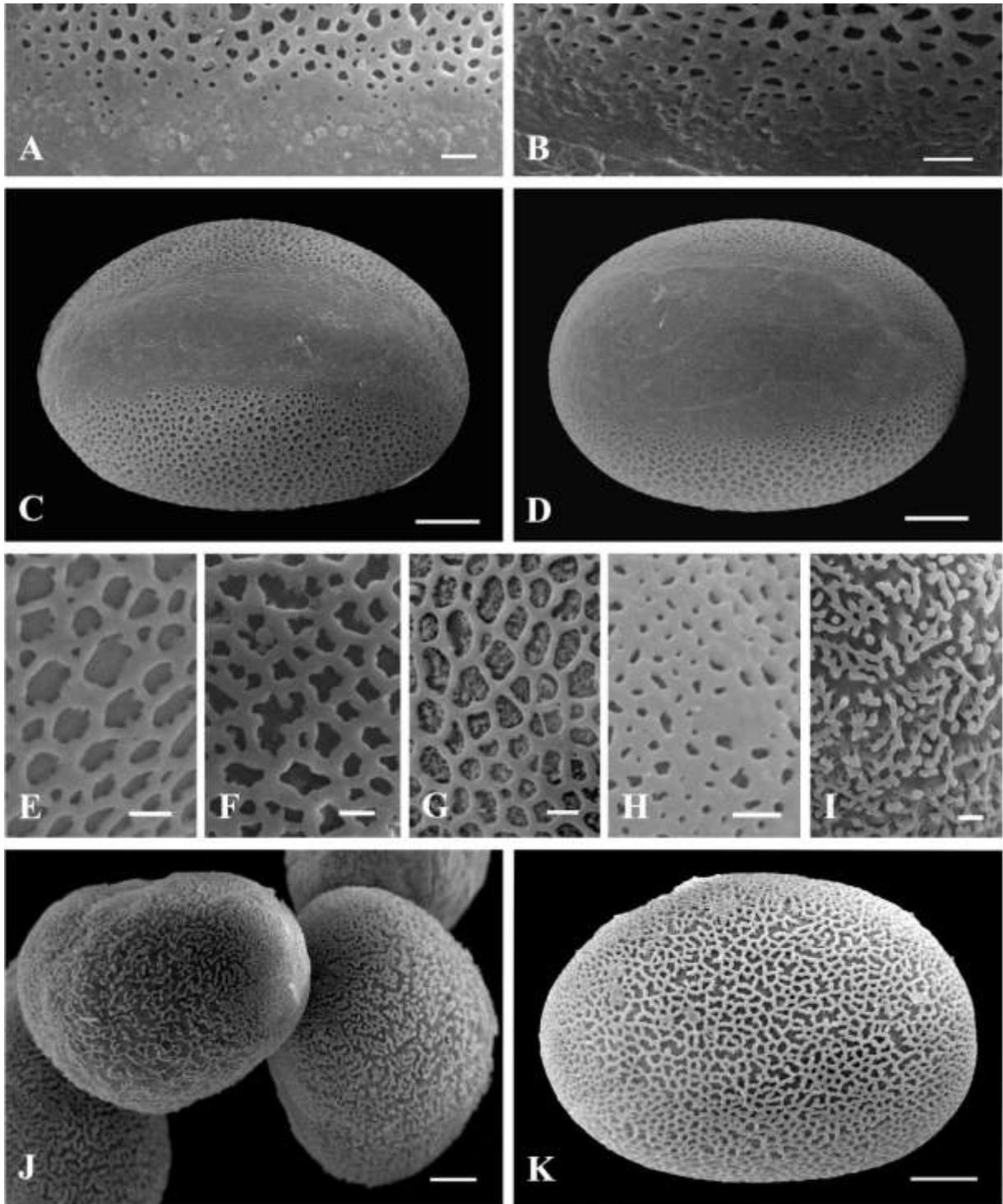
Após esta pequena revisão, destaca-se que algumas espécies amostradas apresentam a mesma possibilidade de relativização do caráter. Como mencionado anteriormente, exemplares do gênero *Dyckia* não pertencentes ao “*complexo maritima*” apresentaram variação, ainda que possam ser considerados do mesmo tipo (“*Puya*”) (HALBRITTER, 2016a, i). Assim é também com espécies pertencentes ao “*complexo*”. Para as espécies amostradas, a margem da abertura está demonstrada na Figura 3A-D.

Como demonstrado na Tabela 2, a observação qualitativa da margem da abertura foi caracterizada como do tipo “*Puya*” (1) ou “*Outra*” (2). O termo genérico “*outra*” refere-se exatamente à discussão acima acerca da impossibilidade de caracterização inequívoca como margem do tipo “*Puya*” por apresentarem muitas diferenças de tal tipo, ou muita semelhança à margem do tipo “*Catopsis*”. Por não ter sido realizada revisão formal do conceito da tipologia da margem, nem haver relatos da observação de alguma delas em gêneros diferentes ao indicado por Halbritter (1992), por prudência, optou-se por não utilizar o termo “tipo *Catopsis*” simplesmente, ainda que possa ser o mais indicado. Assim, “*Outra*” compreende tudo que não é margem do tipo “*Puya*” facilmente caracterizável (*stricto sensu*): tipo “*Catopsis*”, tipo “*Imperialis*”, tipos intermediários ou mesmo tipo “*Puya*” incomum, ou de difícil ou imprecisa caracterização (*latu sensu*). A Tabela 3 demonstra qual a tipologia adotada para a margem da abertura dos grãos de pólen das espécies amostradas.

Como pode ser observado, as seguintes espécies apresentam a margem da abertura facilmente caracterizável como do tipo “*Puya*”: *D. agudensis*, *D. domfelicianensis*, *D. hebdingii*, *D. maritima*, *D. myriostachya*, *D. polyclada*, *D. retroflexa*, *D. rígida* e *D. distachya*. A margem da abertura do tipo “*Puya*” é demonstrada na Figura 3B. Por outro lado, as espécies que apresentaram margem da abertura de difícil caracterização, e que está demonstrada na Figura 3A, foram: *D. alba*, *D. delicata*, *D. nigrospinulata*, *D. selloa* e *D. tomentosa*. Como já discutido, a diferenciação entre os tipos de margem pode não ser facilmente realizada. Anteriormente foi apresentado exemplo dentro do gênero *Dyckia* que, utilizando-se o critério estabelecido por Halbritter (1992), mostra que mesmo duas margens do mesmo tipo podem ser bastante diferentes. Também foi discutido por meio de outros exemplos que margens de tipos diferentes podem ser extremamente semelhantes. Este pode ser o caso observado em algumas espécies analisadas, como demonstrado nas Figuras 3C e D. A Figura 3C refere-se a grão de pólen da espécie *D. delicata*, que foi caracterizada como margem da abertura do tipo “*Outra*” (2). Note como a deposição decrescente de exina na região da abertura não é clara e como pode ser notada uma linha na região da margem com pouca evidência, mas suficiente para auxiliar na identificação da alteração relativamente abrupta da região com deposição de exina para a região sem deposição de exina. Tal margem da abertura é muito semelhante às margens das espécies *Puya floccosa* (Tipo “*Puya*”?)

(HALBRITTER, 2016h) e *Catopsis floribunda* (Tipo “*Catopsis*”?) (HALBRITTER, 2016f). Além disso, a Figura 3D refere-se a grão de pólen da espécie *D. domfelicianensis*, que foi caracterizada como possuindo margem da abertura do tipo “*Puya*” (1). A margem da Figura 3D é também muito semelhante à margem da Figura 3C. No entanto, na Figura 3D, ao observar com mais atenção, a deposição decrescente de exina na região da abertura é muito mais clara e não há qualquer indício de interrupção abrupta de sua deposição. Tais indicações reforçam a discussão prévia a respeito da margem da abertura e salientam a necessidade de estudos a serem conduzidos buscando um aperfeiçoamento das tipologias existentes propostas por Halbritter (1992).

Figura 3 – Caracteres qualitativos com variação.



Imagens obtidas em microscopia eletrônica de varredura (MEV). **A, B.** Detalhe da margem da abertura. Observe a diferença entre as margens da abertura, sem que haja uma clara deposição decrescente da exina e com deposição decrescente de exina (tipo “*Puya*”) bem caracterizada. **(A)** Margem caracterizada como “*Outra*” - *D. delicata*. **(B)** Margem tipo “*Puya*” - *D. maritima*. **C, D.** Vista polar distal, evidenciando sulco simples. Observe a pequena diferença entre as margens da abertura que podem ser encontradas e que dificulta a aplicação da tipologia proposta por Halbritter (1992). **(C)** Margem caracterizada como “*Outra*” - *D. delicata*. **(D)** Margem tipo “*Puya*” - *D. domfelicianensis*. **E-I.** Detalhe da ornamentação. **(E, F)** Reticulada. Observe como mesmo em dois exemplos de uma mesma ornamentação podem haver diferenças consideráveis no padrão geral. **(E)** *D. domfelicianensis*. **(F)** *D. polyclada*. **(G)** Reticulado com grânulos livres ou birreticulado - *D. alba*. **(H)**

Microrreticulado - *D. agudensis*. **I, J.** Reticulado com generalizada descontinuidade no retículo - *D. tomentosa*. **(J)** Aspecto geral. Observe que a descontinuidade do retículo é observada em toda a exina. **K.** Reticulado com regiões com descontinuidades no retículo - *D. myriostachya*. Observe a diferença na extensão da descontinuidade do retículo entre (J) e (K). Barras: 1  $\mu\text{m}$  (A, B, E-I); 5  $\mu\text{m}$  (C, D, J, K).

Fonte: Elaboração própria.

Outro caráter importante em palinologia que apresentou variação nas espécies amostradas foi a ornamentação da exina. Para a definição dos tipos encontrados foi utilizado o trabalho de Punt *et al.* (2007). Seguindo o indicado na Tabela 2, e observando-se a Tabela 3, foram encontrados os seguintes tipos de ornamentação: microrreticulada (*D. agudensis*, *D. delicata* e *D. marítima*), reticulada (*D. domfelicianensis*, *D. hebdingii*, *D. nigrospinulata*, *D. polyclada*, *D. retroflexa*, *D. rígida*, *D. selloa* e *D. distachya*), reticulado com grânulos livres ou birreticulado (*D. alba*), reticulado com regiões com descontinuidades no retículo (*D. myriostachya*) e reticulado com generalizada descontinuidade no retículo (*D. tomentosa*). Todos exemplos das ornamentações observadas estão demonstrados nas Figuras 3E-K. Importante mencionar ainda que, ao observar a literatura, há pelo menos o registro de mais um tipo de ornamentação no gênero *Dyckia*. Trata-se da espécie *Dyckia ursina* L.B.Sm., que foi descrita como possuindo ornamentação de microrreticulada à perforada (HALBRITTER, 2016r).

Inicialmente é importante destacar a considerável quantidade de tipos de ornamentação observados nas espécies amostradas. Apesar de não ser o mais frequentemente observado, esse tipo de ocorrência não é restrito ao gênero *Dyckia*. Mesmo dentro da família Bromeliaceae, vários gêneros apresentam diferentes padrões de ornamentação, como se verá na discussão abaixo. Além disso, é importante frisar que no grupo analisado, o padrão dominante observado foi o reticulado, não só em ocorrência (8 espécies, enquanto todos os outros tipos de ornamentação juntos somam 6 espécies), mas também pelos demais padrões poderem ser considerados variações, mais ou menos profundas, do padrão reticulado. Passo a análise individual de cada tipo de ornamentação observado.

- Reticulado: segundo Punt *et al.* (2007), o padrão reticulado é definido como a deposição de exina em um tipo de malha com lumes maiores que 1  $\mu\text{m}$  cercados por elementos de exina mais estreitos que o lume e com forma irregular. Para o caso, o retículo possui também espessura irregular (heterobrocado). A ornamentação reticulada está demonstrada nas Figuras 3E e F. Conforme se observa na Tabela 3, todas as ornamentações das espécies amostradas

reconhecidas como reticulada possuem os lumes maiores que 1  $\mu\text{m}$ . A ornamentação reticulada foi a mais observada no grupo amostrado, conforme já mencionado, o que é corroborado por diferentes trabalhos que abordaram o gênero (HALBRITTER, 1992; PALDAT, 2000; PIRE; SCHININI, 1992; SALGADO-LABOURIAU, 1973; WANDERLEY; MELHEM, 1991). No entanto há uma divergência importante entre o achado do presente trabalho com a descrição de Halbritter (2016q). Aqui a espécie *D. hebdingii* é descrita como com ornamentação reticulada e no trabalho mencionado como possuindo ornamentação microrreticulada. Na busca de objetividade e buscando evitar que sejam concluídas razões para a divergência por meio apenas de especulações, o indicado é que os testes com a espécie sejam repetidos.

Discussão importante a respeito do padrão reticulado é que se trata de mais um exemplo em que a simplificação da descrição ao utilizar apenas esta tipologia não é suficiente para uma descrição precisa das características observadas. As diferenças encontradas ao serem observadas as Figuras 3E e F demonstram o problema. A espécie demonstrada na Figura 3E é *D. domfelicianensis* e a demonstrada na Figura 3F é *D. polyclada*. Ambas são consideradas com ornamentação reticulada, porém na observação se evidenciam diferenças importantes na morfologia do retículo. Sendo assim, informações adicionais ou um maior número de imagens são necessárias para uma melhor descrição do grão de pólen. Também essa observação é recorrente em diferentes gêneros da família, como, por exemplo, os gêneros *Aechmea* Ruiz & Pav., *Tillandsia* L., *Vriesea* Lindl., dentre outros (PALDAT, 2000).

- Microrreticulado: é reconhecido quando o grão de pólen possui padrão reticulado, porém os lumes do retículo possuem tamanho menor que 1  $\mu\text{m}$  (PUNT *et al.*, 2007). Os casos observados também são heterobrocados. A ornamentação microrreticulada está demonstrada na Figura 3H. Conforme se observa na Tabela 3, todas as ornamentações das espécies amostradas reconhecidas como microrreticulada possuem lumes menores que 1  $\mu\text{m}$ . A observação de tal ornamentação no gênero é corroborada por outros trabalhos constantes na literatura (HALBRITTER, 2016n; PALDAT, 2000; SOUZA; MENDONÇA; GONÇALVES-ESTEVEZ, 2004). Alguns gêneros em Bromeliaceae apresentam estes diferentes tipos de ornamentação (reticulado e microrreticulado): *Aechmea*, *Araeococcus* Brongn., *Billbergia*, *Brocchinia*, *Bromelia* L., *Catopsis*, *Hohenbergia* Schult. &

Schult.f. e *Neoregelia* L.B.Sm. (PALDAT, 2000), e, portanto, tal variação dentro de um mesmo gênero é plenamente aceitável.

- Reticulado com grânulos livres ou birreticulado: uma espécie amostrada apresentou a ornamentação reticulada com deposição de elementos da exina nos lumes do retículo (*D. alba*). Com as técnicas utilizadas, não é possível afirmar se tratar de um caso de ornamentação birreticulada (PUNT *et al.*, 2007). A ornamentação birreticulada é caracterizada por um suprarretículo sustentado por um semiteto de um microrretículo. No caso demonstrado na Figura 3G, tal sugestão é viável, porém não comprovada. Em Bromeliaceae, não há nenhum caso em que seja descrito grão de pólen com birretículo, o que pode indicar que tal interpretação esteja incorreta. Outra possibilidade é a deposição de elementos livres da exina na região do lume do retículo. Essa ocorrência é observada em diversos outros gêneros de Bromeliaceae, que possuem representantes com, e outros sem, algum tipo de deposição: *Aechmea*, *Acanthostachys* Klotzsch, *Billbergia*, *Canistropsis* (Mez) Leme, *Neoregelia*, *Ronnbergia* E.Morren & Andre, *Quesnelia* Gaudich. e *Tillandsia* (Ex.: Halbritter (2019b)) (PALDAT, 2000). No entanto, na maioria das ocorrências em Bromeliaceae, a deposição de exina no lume não é semelhante ao observado na espécie *D. alba*. Como exemplo pode ser utilizada a espécie *Billbergia euphemiae* E.Morren (HALBRITTER, 2019b). A deposição de exina no lume é constituída de grânulos bastante isolados, independentes entre si. No caso da espécie *D. alba* (Figura 2G), os elementos parecem ter interligação, apesar de não ser visível a extensão desta ligação. De qualquer forma, o observável em MEV é suficiente para ser considerado como mais do que apenas grânulos livres. A espécie com a característica mais semelhante ao observado é a espécie *Aechmea incompta* Leme & H.Luther (HALBRITTER, 2019a). A deposição no lume do retículo é consistente, sendo descrita inclusive como columelas livres. Desta forma, a ocorrência de deposição de exina no lume do retículo é coerente com o restante da família Bromeliaceae. No entanto, estudos com metodologias que permitam maior aprofundamento devem ser conduzidos para que as peculiaridades destes elementos possam ser melhor compreendidas.

Por outro lado, é importante destacar que as espécies *D. selloa* e *D. domfelicianensis*, apresentaram eventualmente alguma deposição no lume do retículo, como se pode observar, com aproximação, na Figura 2F. No entanto, nestas espécies a deposição foi pontual, não verificada em todos os grãos de pólen

analisados. Além disso, a deposição é menos contínua, e contrasta bastante com o encontrado na espécie *D. alba*, que apresenta uma deposição muito mais intensa e observada de modo geral em todos os grãos de pólen analisados (Figura 2G). Desta forma, as duas espécies mencionadas não foram caracterizadas dentro da tipologia ora descrita, mas sim com padrão reticulado apenas.

- Reticulado com regiões com descontinuidades no retículo: esta ornamentação da exina caracterizou-se como reticulada, porém com diversas descontinuidades espalhadas pelo retículo e está demonstrada na Figura 3K. Tal característica foi observada em apenas uma espécie (*D. myriostachya*) e é também coerente com outros gêneros na família Bromeliaceae, que possuem representantes com e outros sem tais descontinuidades. Os gêneros *Quesnelia* e *Vriesea*, além de *Pitcairnia*, da subfamília Pitcairnioideae, possuem representantes com esta característica do retículo (Ex.: Halbritter e Till (2016)) (PALDAT, 2000).

Importante destacar que não há uma nomenclatura tipológica específica para a descrição de tal característica do retículo. Considerando ser essa uma característica que parece ser recorrente, uma vez que é encontrada em outros gêneros de Bromeliaceae e possivelmente em outras famílias botânicas, sugere-se o estabelecimento de uma nomenclatura tipológica que a descreva com mais precisão e concisão. Para tanto, se sugere “Retículo parcialmente descontínuo”.

- Reticulado com generalizada descontinuidade no retículo: a característica observada foi encontrada em apenas uma espécie (*D. tomentosa*) e é similar ao caso anterior: o retículo apresenta descontinuidades. No entanto, diferente da situação anterior, as descontinuidades são generalizadas e observadas no grão de pólen como um todo – Figura 3I e J. A própria definição como reticulado pode ser questionável, uma vez que não há continuidade na deposição de exina que forme um retículo claramente distinguível, além de não haver uma formação delimitada de lumes. No entanto, no presente trabalho se optou por utilizar o termo, considerando que o padrão encontrado em grãos de pólen no gênero é reticulado, além de, em observação, um retículo poder ser inferido. Apenas uma espécie em Bromeliaceae apresenta tal característica, e ela é pertencente também a subfamília Pitcairnioideae – *Pitcairnia albiflos* Herb. (HALBRITTER, 2016p). A descrição da ornamentação de tal espécie também foi considerada reticulada, apesar da generalizada descontinuidade na deposição de exina, além da ausência constante de lumes delimitados. É importante salientar que a observação conjunta das características de

descontinuidade no retículo aqui descritas - restrita à algumas regiões ou de forma generalizada - ocorre apenas no gênero *Dyckia* e no gênero *Pitcairnia*, o que pode indicar uma derivação específica na subfamília. No entanto, a palinologia é uma ciência com muito campo para ampliação. Estudos a serem conduzidos de modo mais abrangente nos gêneros mencionados, na subfamília Pitcairnioideae, em Bromeliaceae ou ainda em outras famílias botânicas podem auxiliar na identificação de outros grupos com esta característica e na sua inserção na discussão da derivação evolutiva ou mesmo da aplicação taxonômica.

Além disso, assim como no caso anterior, não há uma nomenclatura tipológica que descreva adequadamente a característica (PUNT *et al.*, 2007). Portanto, no presente trabalho, se optou pelo uso da expressão “Retículo descontínuo” que representa melhor a ornamentação observada em *D. tomentosa*, e é o que se sugere para casos semelhantes como em *P. albiflos*.

Durante a realização do presente trabalho, ainda outros caracteres foram considerados como de possível relevância para a família. Além dos caracteres já mencionados e dos apontamentos de necessidade de realização de outros estudos que metodologicamente tenham capacidade de melhor avaliar determinadas características, conforme acima exposto, pode-se mencionar ainda a possibilidade de investigação mais aprofundada do infrateto (PUNT *et al.*, 2007). Suas características, se deve ser considerado como columela, ou conjuntado, ou digitado, ou ainda se é simpli-, dupli- ou policolumelado, são algumas das possibilidades de exploração.

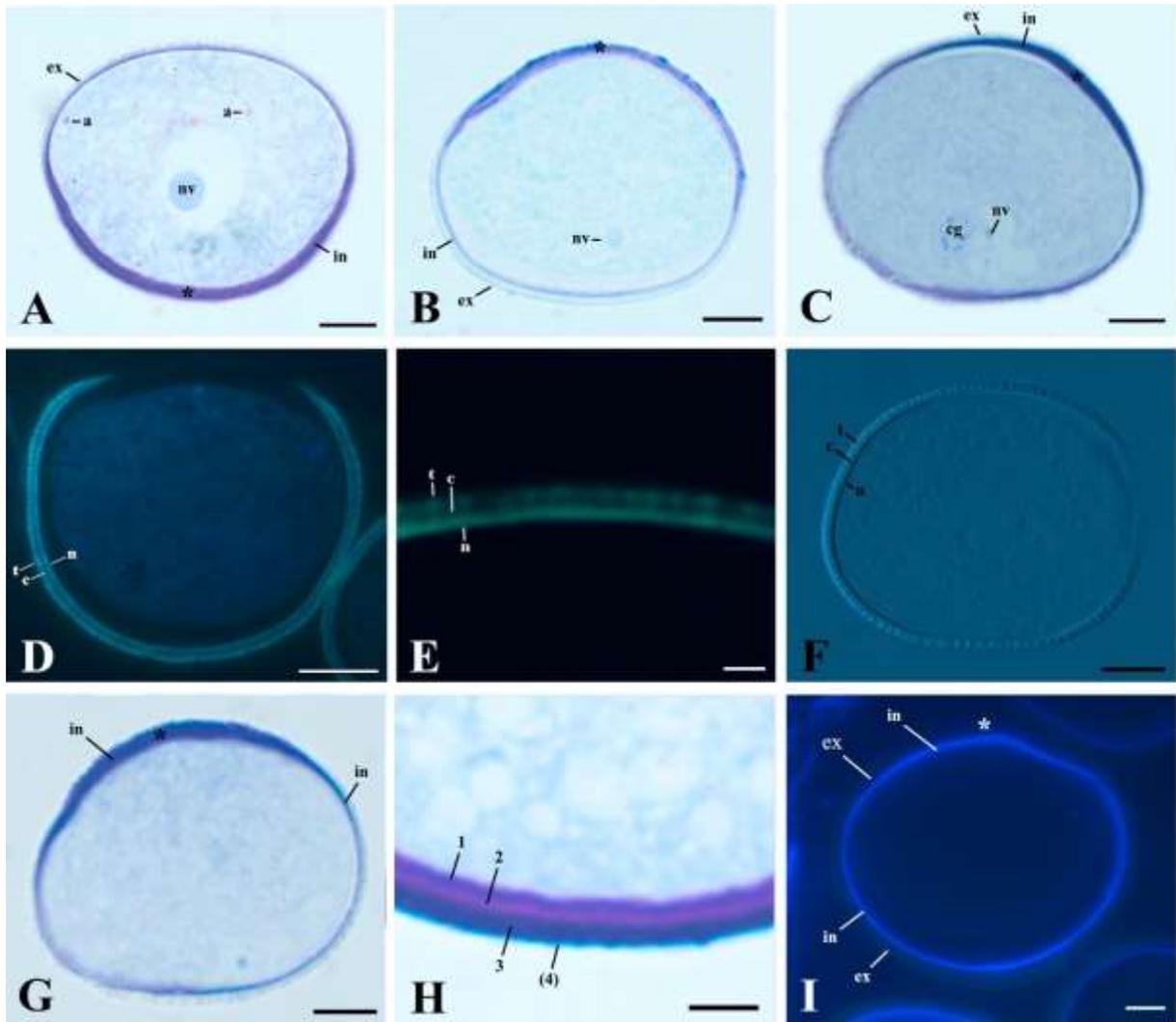
#### 4.3 MORFOLOGIA POLÍNICA: OUTRAS OBSERVAÇÕES

Como já mencionado, serão abordadas outras características em que houve observações relevantes na morfologia polínica. Inicialmente, serão comentadas algumas características da intina. Esta camada é bastante delgada e, portanto, diferenças muito acentuadas não são esperadas. A exemplificação da intina está demonstrada na Figura 4A-C e G-I. Na Figura 4A-C, G e H a intina está evidenciada pelo uso do corante Azul de Toluidina O. O corante é metacromático, apresentando como resultado diferentes colorações e intensidades de cores de acordo com as diferentes composições químicas das estruturas com que reage. Assim, a

observação da intina se torna possível. No caso da Figura 4I o reagente utilizado (Calcofluor White) para observação em microscopia em fluorescência é específico para destaque de celulose, que é exclusivamente encontrada na intina, ficando, portanto, evidenciada (NEPI; FRANCHI, 2000).

A intina tradicionalmente é conhecida por ser uma camada fina, que pode apresentar maior espessamento na região da abertura (NEPI; FRANCHI, 2000), o que se pode observar na Figura 4A-C e H. Tal espessamento está relacionado provavelmente com a emissão do tubo polínico, após a polinização. No entanto, considerando apenas o reagente específico para identificação de celulose, o espessamento mais acentuado na região não é observado (Figura 4I). Esta ocorrência se deve às diferentes subcamadas da intina na região da abertura, cada uma delas com diferentes composições químicas. Segundo Nepi e Franchi (2000), entre as aberturas há uma maior homogeneidade na intina, sendo composta por pectinas, celulose e hemicelulose. Por outro lado, na região da abertura há uma particular evidência de subcamadas da intina por diferenciação química, sendo a mais profunda composta de celulose e a mais externa de pectinas. Considerando que o corante Azul de Toluidina O é metacromático, em alguns casos, todas as camadas da intina foram coradas na região da abertura, porém com diferentes cores e intensidades (Figura 4G). Ainda, o corante revela a presença de ácidos pécnicos, apresentando coloração avermelhada, conforme pode ser observado na Figura 4G (subcamada "2"), o que corrobora as afirmações de Nepi e Franchi (2000) quanto a presença de uma subcamada na intina com este constituinte na região da abertura, porém não com relação a posição desta subcamada. Nepi e Franchi (2000) afirmam que esta subcamada é a mais externa da intina. No presente trabalho ela está localizada como uma camada intermediária em termos de profundidade.

Figura 4 – Aspecto geral dos grãos de pólen em secção.



Seções com técnicas de análise em microscopia de luz em campo claro e coloração com Azul de Toluidina O (MCC) em A, B, C, G e H; microscopia em fluorescência com tratamento com os reagentes Auramina O (MFA) em D e E, e Calcofluor White (MFC) em I; e microscopia em contraste interferencial (MCI) em F. **A.** Evidenciação de prováveis grãos de amido - *D. nigrospinulata* (MCC). **B-C.** Célula generativa e núcleo da célula vegetativa posicionados junto à parede oposta à abertura (também observável em (G)) (MCC). **(B)** *D. domfelicianensis*. **(C)** *D. maritima*. **D-F.** Observação dos estratos da exina, evidenciando a presença de sexina (semiteto e columela) e nexina. **(D)** *D. agudensis* (MFA). **(E)** Em detalhe - *D. rigidum* (MFA). **(F)** *D. domfelicianensis* (MCI). **G-I.** Observação da intina (observável também em (A), (B) e (C)). **(G)** Observe como há uma maior deposição de intina na região da abertura - *D. retroflexum* (MCC). **(H)** Porção da intina na zona da abertura em detalhe. Observe a estratificação que pode ser observada de 3, ou até 4, camadas da intina - *D. tomentosum* (MCC). **(I)** Observe como utilizando Calcofluor White em microscopia em fluorescência não é evidenciada a maior deposição de intina na região da abertura como ocorre em (G), demonstrando a existência de outra(s) camada(s) na intina com composição(ões) química(s) diferente(s) da composição de celulose - *D. retroflexum* (MFC). **Abreviações:** a, grãos de amido; ex, exina; in, intina; t, tecto; c, columela; n, nexina; nv, núcleo da célula vegetativa; cg, célula generativa; \*, região da abertura. Barras: 1 µm (E, G); 5 µm (A-D, F, H, I).

Fonte: Elaboração própria.

A diferença de intensidade na coloração das subcamadas na Figura 4G se deve justamente pela diferença de composição química entre elas. Considerando

que o reagente Calcofluor White é específico para  $\beta$ -glucanos (NEPI; FRANCHI, 2000), a identificação da intina na região entre as aberturas é semelhante ao identificado por meio do corante Azul de Toluidina O, quanto a espessura da camada (local em que ela é mais homogênea) (Figuras 4H e I). Porém, na região da abertura (local com subdivisões da intina em diferentes subcamadas), a espessura da camada revelada por Calcofluor White permanece a mesma, diferente da reação ao corante Azul de Toluidina O, justamente porque o reagente Calcofluor White reage apenas com a subcamada composta por celulose, ou seja, apenas uma subcamada da intina na região da abertura, o que é bastante aceitável ao se comparar as Figuras 4G e I.

Apesar de se ter ciência da existência de diferentes subcamadas na região da abertura, apenas em três espécies foi possível sua identificação (Figura 4G): *D. nigrospinulata*, *D. polyclada* e *D. tomentosa*. O fato de não ter sido identificado nas demais espécies (Figura 4A-C e H) não significa que sejam casos em que não há subdivisão da intina. Provavelmente nestes casos não foi possível sua identificação devido a problemas relacionados às técnicas de coloração empregadas, e sugere-se a repetição dos testes com maior controle para obtenção de resultados mais consistentes e padronizados. A literatura apresenta exemplos tanto da identificação como da não identificação das subcamadas com a utilização do corante. No trabalho de Oliveira *et al.* (2015) também com análises no gênero *Dyckia*, não foi observada qualquer subdivisão da intina. Este inclusive não era o objetivo daquele trabalho. Por outro lado, o trabalho de Santos (2017), com análises no gênero *Bromelia* e que também não tinha como objetivo a identificação de camadas da intina, uma subdivisão foi identificada, relatando a presença de quatro subcamadas. Na Figura 4G, três subcamadas são claramente identificáveis e uma quarta camada pode ser também sugerida, apesar de tal camada necessitar de maior investigação.

A identificação em três espécies da divisão da intina em subcamadas não foi utilizada como um caráter no trabalho. Também não foram realizadas medidas da intina, pois em análise preliminar, foram identificadas variações bastante aparentes na sua espessura. Mesmo nas regiões entre a abertura em que se espera que a intina tenha uma maior uniformidade na espessura, houve observação de diferenças que suscitaram dúvidas quanto à correção da medida. Por fim, importante registrar também que a observação detalhada da intina, visando a identificação e composição das suas subcamadas, deve ser conduzida por meio de metodologias que permitam

essa abordagem de forma mais aprofundada, como análises histoquímicas específicas (JOHANSEN, 1940; SOUTHWORTH, 1973) ou utilização de Microscopia Eletrônica de Transmissão, por exemplo.

Conforme mencionado, várias medidas das espessuras de cada substrato da exina foram realizadas. Os resultados das medidas estão expressos na Tabela 3 e foram todos utilizados para fins estatísticos. Como será melhor discutido na seção “4”, as diferenças de medidas entre as espécies amostradas foram significativas ( $p < 0,05$ ). Como já mencionado, inicialmente o caráter foi analisado por aparentemente apresentar variação entre as espécies amostradas, em observação qualitativa prévia, posteriormente confirmada por meio das medições realizadas. Tais variações são bastante esperadas, em maior ou menor grau, quando comparados diferentes grãos de pólen.

Quanto às razões N/H e S/H, expressam a contribuição da sexina e da nexina na formação da exina. Já as razões I/S e T/S, expressam a contribuição do infrateto e do semiteto para a formação na sexina.

De maneira complementar, alguns breves comentários acerca de duas outras observações nas espécies amostradas, que são aqui relatadas com finalidade descritiva e indicativa de potenciais análises futuras. Foram identificados prováveis grãos de amido observados em algumas espécies amostradas (Figura 4A). Tais estruturas puderam ser observadas nas espécies *D. alba*, *D. domfelicianensis*, *D. myriostachya*, *D. nigrospinulata*, *D. rígida*, *D. selloa*, *D. tomentosa* e *D. distachya* e foram evidenciadas em microscopia em campo claro com o uso do corante Azul de Toluidina O. Como já mencionado, tal corante é metacromático e revela polissacarídeos. No trabalho de Oliveira *et al.* (2015) é analisada a espécie *Dyckia racinea*, com a utilização de metodologia específica para detecção de grãos de amido, o que é confirmado. Portanto, há indícios consistentes de que as estruturas observadas são grãos de amido como substâncias de reserva, e tais indícios são sustentados pela literatura. Ainda assim, sugere-se a aplicação de metodologias específicas como utilização de corantes ou reagentes específicos ou a observação em microscópio com a utilização de técnicas por meio de luz polarizada, para a detecção inequívoca de grãos de amido, ou outra substância de reserva.

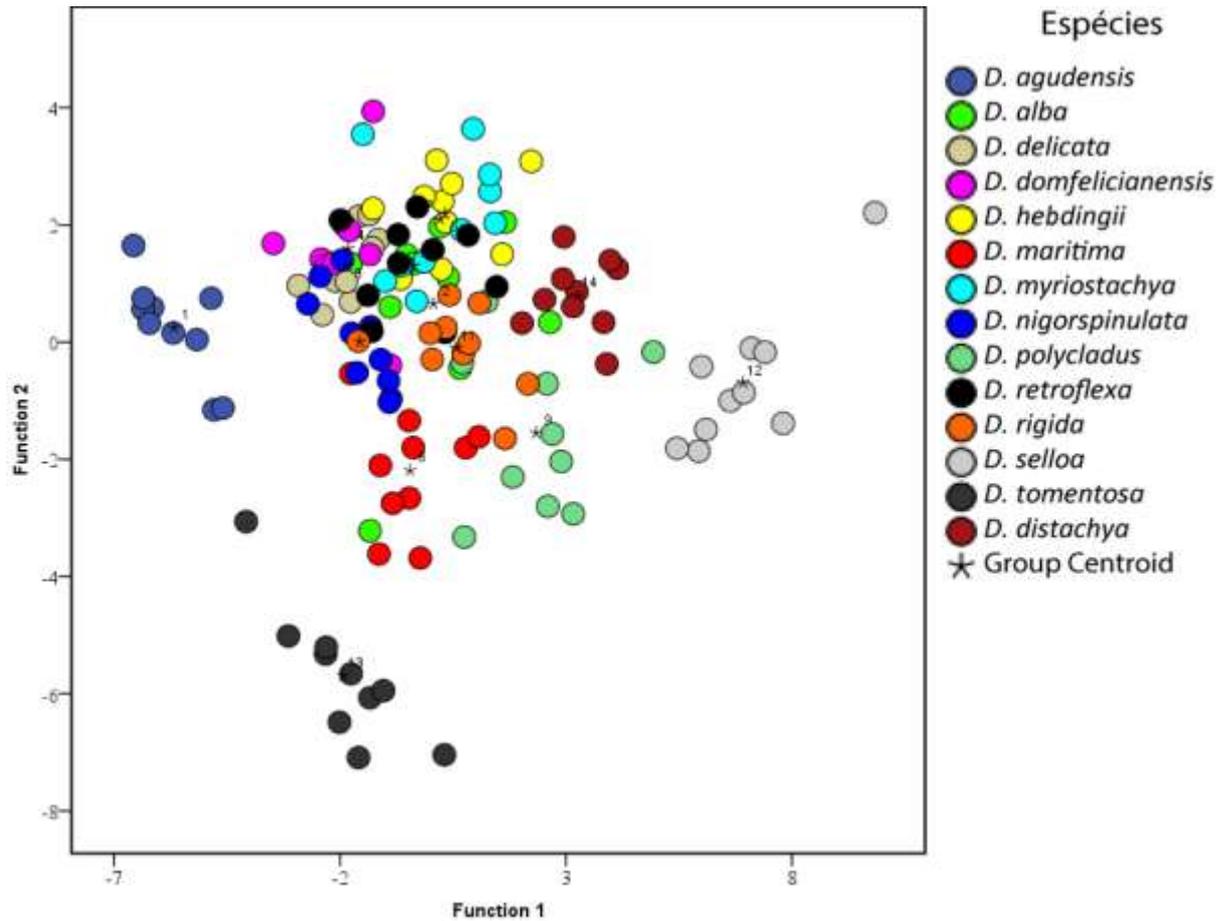
Por fim, houve a identificação eventual de posição oposta à abertura da célula generativa e do núcleo da célula vegetativa dentro do grão de pólen, conforme demonstrado na Figura 4B-C e H. A possibilidade de posicionamento deslocado da célula generativa e do núcleo da célula vegetativa de modo não centralizado e próximo da parede oposta à abertura não é desconhecido no gênero *Dyckia*. No trabalho de Oliveira *et al.* (2015) é possível observar esse deslocamento na espécie *Dyckia racinae* L.B.Sm., apesar de tal observação não ser o objetivo daquele trabalho. No entanto, maiores análises são necessárias para que a característica seja melhor compreendida dentro do gênero, e se ela possui relevância na comparação com outros gêneros da subfamília Pitcairnioideae ou mesmo na família Bromeliaceae. Com maiores investigações se poderá identificar se este deslocamento é também encontrado em outros gêneros da família, ou se poderia se constituir uma eventual apomorfia em *Dyckia*, por exemplo.

#### 4.4 “COMPLEXO MARITIMA”

Todas as diferenças entre os dados quantitativos encontrados foram significativas ( $p < 0,05$ ) utilizando-se o teste ANOVA. Quanto às análises multivariadas, o gráfico de ordenação da análise discriminante (DA) com duas funções (Figura 5) representa 75,1% de correspondência com os dados analisados.

A Figura 5 apresenta análise multivariada utilizando apenas os caracteres quantitativos, constantes na Tabela 3. Observando a figura, a distribuição das espécies possui homogeneidade, exceto quanto as espécies *D. agudensis*, *D. selloa* e *D. tomentosa*. Para todas elas, é razoável afirmar que podem ser consideradas como externas ao possível “complexo” formado pelas espécies amostradas. As demais espécies formam um agrupamento. No entanto, a espécie utilizada como externa (*D. distachya*) não foi isolada do restante das espécies. Assim, os dados quantitativos obtidos no presente trabalho não apoiam o estabelecimento de um “complexo” com as espécies amostradas.

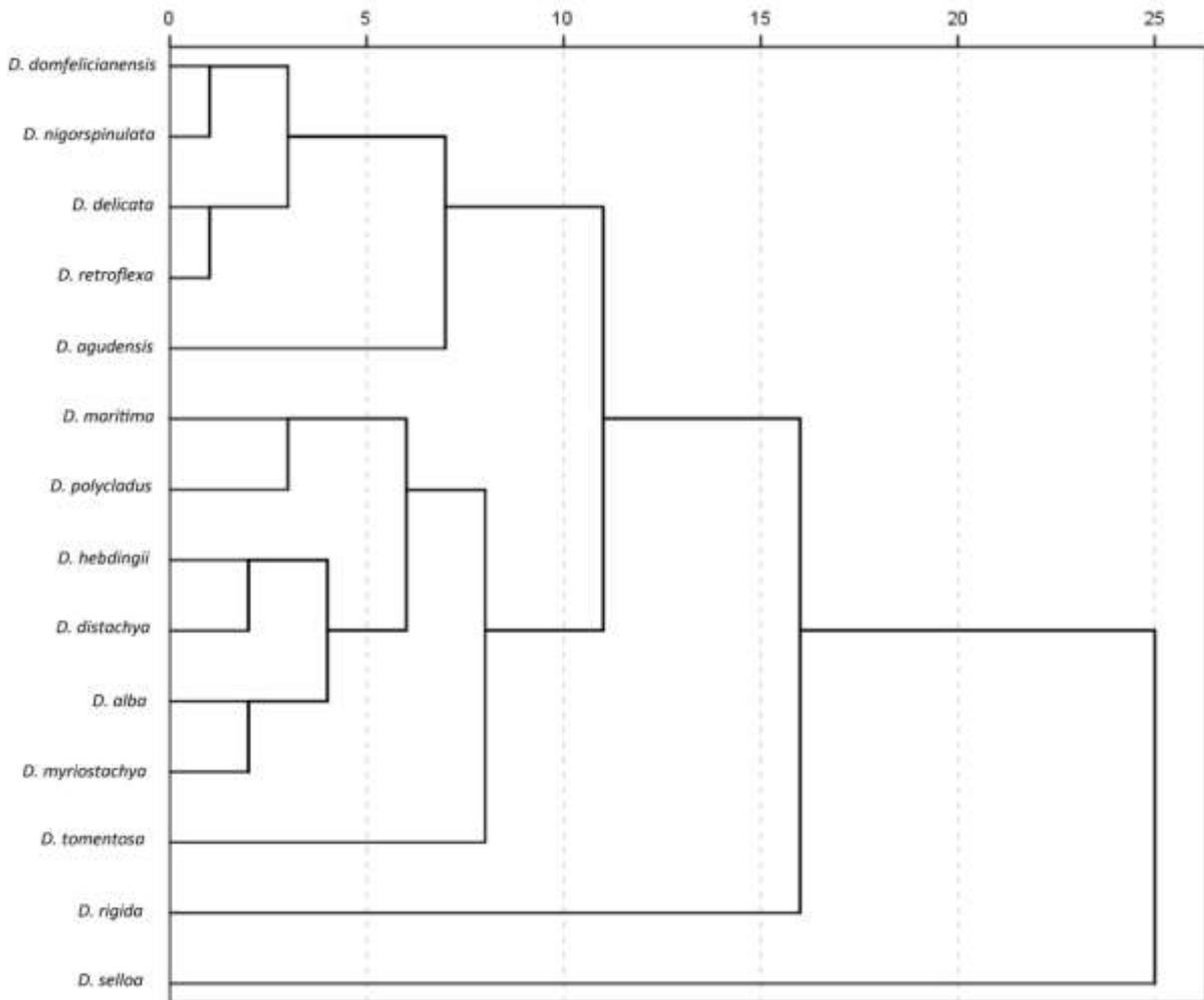
Figura 5 – Análise discriminante (DA).



Fonte: Elaboração própria.

Por seu lado, a Figura 6 apresenta dendrograma obtido com a utilização de todos os caracteres que apresentaram variação (qualitativos e quantitativos) – Tabela 3. Os dados quantitativos foram considerados pela sua mediana. Observando a figura, nota-se um isolamento das espécies *D. selloa* e *D. rigida*, principalmente. As demais espécies podem ser consideradas um agrupamento. No entanto, semelhante à Figura 5, a espécie *D. distachya* não foi isolada das demais.

Figura 6 – Dendrograma.



Fonte: Elaboração própria.

O resultado demonstrado na Figura 6 contrasta com aqueles apresentados por Troleis (2018) que indicou o isolamento de outras espécies das demais (*D. delicata* e *D. hebdingii*). Vale mencionar que o trabalho apresentou resultados baseados na morfoanatomia da folha no grupo. No entanto, os resultados aqui demonstrados possuem semelhança com o trabalho mencionado e mesmo com o trabalho de Gomes-da-Silva, Santos-Silva e Forzza (2019) ao não indicar de forma inequívoca a formação de um “complexo” coeso com as espécies amostradas. Este último, ao utilizar dados morfológicos e moleculares, propõe filogenia que estabelece a espécie *D. delicata* com bastante isolamento quando comparada com as demais espécies amostradas e que compõem o grupo aqui estudado.

A partir de então, as análises serão realizadas partindo-se das informações contidas nas Figura 5 e 6 conjuntamente. Para fins de organização, será adotada a

seguinte sequência: inicialmente serão comentadas observações das espécies que apresentam algum grau de indefinição quanto ao seu estabelecimento ou possibilidade de serem consideradas como sinônimos, de maneira individualizada (*D. myriostachya*, *D. polyclada* e *D. tomentosa* – ver Tabela 1); e, posteriormente, serão comentadas observações das espécies amostradas como um conjunto, visando a discussão do “*complexo marítima*” como um todo.

Como se pode observar na Tabela 1, atualmente dois nomes de espécies não são reconhecidas na lista de espécies utilizada no presente trabalho: *D. myriostachya* e *D. tomentosa*, que são considerada sinônimo de *D. selloa* e *D. marítima*, respectivamente (GOUDA; BUTCHER, 2020). Tais nomes de espécies são reconhecidos na Flora do Brasil (2020). Além disso, a espécie *D. polyclada* (nome reconhecido por Gouda e Butcher (2020)) é considerada como um sinônimo de *D. tomentosa* na Flora do Brasil (2020). Observando-se a Figura 5, a espécie *D. myriostachya* está com uma disposição bastante agrupada na ordenação, próxima a várias outras espécies amostradas. *D. myriostachya* é a única espécie que apresenta ornamentação reticulada com descontinuidades no retículo. A semelhança e sinonimização relatadas na literatura entre a espécie *D. myriostachya* e as espécies *D. selloa* e *D. marítima*, respectivamente (FLORA DO BRASIL, 2020; GOUDA; BUTCHER, 2020) não são corroboradas pelos dados palinológicos aqui obtidos. As Figuras 5 e 6 apresentam bastante distanciamento entre tais espécies. Além disso, a espécie *D. selloa* apresenta margem tipo “*Outra*” e ornamentação reticulada, o que contrasta com a espécie *D. myriostachya*, que apresenta margem do tipo “*Puya*”, e ornamentação já relatada (ver também Tabela 3). Assim, levando em conta exclusivamente a análise do grão de pólen das espécies pertencentes ao “*complexo marítima*”, o presente trabalho endossa o reconhecimento da espécie *D. myriostachya* de maneira distinta da espécie *D. selloa* e *D. marítima*, o que já é considerado pela Flora do Brasil (2020), porém não por Gouda e Butcher (2020).

Quanto a espécie *D. tomentosa*, é bastante isolada das demais espécies ao se observar a Figura 5. Além disso, a espécie apresenta uma ornamentação bastante particular, com descontinuidades generalizadas no retículo, e que não tem paralelo com qualquer outra espécie do grupo estudado (ver discussão da ornamentação na seção “2”). A Flora do Brasil (2020) menciona que a o nome *D. polyclada* é sinônimo heterotípico de *D. tomentosa*. No entanto, no presente trabalho, *D. polyclada* está ordenada de forma mais consistente dentro do

agrupamento das espécies amostradas (Figura 5), e seus caracteres morfológicos sugerem diversas similaridades com outras espécies do grupo, mas não com a espécie *D. tomentosa*. *D. polyclada*, diferentemente de *D. tomentosa*, possui margem do tipo “*Puya*” e ornamentação reticulada, que são caracteres bastante comuns no grupo estudado e no gênero *Dyckia* como um todo. Portanto, levando em conta exclusivamente a análise do grão de pólen das espécies pertencentes ao grupo estudado, o presente trabalho incentiva o reconhecimento a utilização do nome *D. tomentosa*, o que já ocorre na Flora do Brasil (2020), porém não no trabalho de Gouda e Butcher (2020), e sua ornamentação peculiar indica inclusive que não há outras espécies semelhantes a ela no próprio gênero *Dyckia*. Por outro lado, os presentes dados não reconhecem a espécie *D. polyclada* como sinônimo da espécie *D. tomentosa*, o que é afirmado na Flora do Brasil (2020), mas corrobora sua aceitação como espécie como reportado por Gouda e Butcher (2020), apesar de serem sugeridos estudos adicionais comparando-a a outras espécies do gênero *Dyckia*, inclusive por meio de análises adicionais, para seu estabelecimento seguro como espécie.

Como mencionado, considerando-se as Figuras 5 e 6, o estabelecimento do grupo de espécies amostradas como um “complexo” não é incentivado. No entanto, os dados aqui trabalhados são exclusivamente palinológicos, portanto incapazes de estabelecimentos taxonômicos definitivos. O “complexo” foi originalmente estabelecido por características das sementes das espécies (BUNEKER *et al.*, 2015; STREHL; BEHEREGARAY, 2006). Troleis (2018) corrobora a formação de um “*complexo marítima*”, composto por algumas das espécies aqui estudadas, e a formação de um “*complexo alba*”, composto por outras. Os dados aqui obtidos contribuem para a discussão, e estudos adicionais ainda merecem ser conduzidos. Caso o “complexo” seja definitivamente reconhecido, considerações acerca de algumas espécies são necessárias.

Primeiramente, é de destaque que a espécie *D. tomentosa* apresentou um isolamento considerável das demais espécies estudadas (Figura 5). O fato é corroborado pelas análises morfológicas já discutidas nas seções anteriores, em que *D. tomentosa* apresenta diversas características bastante distintivas (ver seção “2”). Da mesma forma, a espécie *D. selloa* apresenta também considerável afastamento em relação às demais espécies (Figura 5 e 6).

Quanto a espécie *D. agudensis*, apesar de demonstrar um afastamento das demais espécies na Figura 5, com a inclusão dos dados qualitativos, tal afastamento não se manteve (Figura 6). Portanto, é necessário maior investigação a respeito da espécie, porém, os dados palinológicos aqui obtidos não são suficientes para que sua exclusão do agrupamento com as demais espécies seja recomendada. Já a espécie *D. rígida* apresentou afastamento das demais na Figura 6, o que não ocorreu na Figura 5, onde ela possui uma ordenação bastante coesa com as demais espécies do grupo. Além disso, a espécie possui margem do tipo “Puya” e ornamentação reticulada, padrões estes bastante comuns no grupo amostrado. Portanto, também a espécie *D. rígida* merece maior atenção em estudos posteriores e, da mesma forma, os dados aqui obtidos não são suficientes para embasar uma sugestão de exclusão da espécie do “complexo”.

Por fim, cabem ainda algumas considerações acerca da nomenclatura adotada para o “complexo”. Originalmente o agrupamento foi batizado como “*complexo maritima*”, considerando que uma das primeiras espécies que foram identificadas como possuidoras das características adotadas para a inclusão no agrupamento foi *D. maritima* (BUNEKER *et al.*, 2015; STREHL; BEHEREGARAY, 2006). Atualmente, porém, o grupo tem sido denominado como “*complexo selloa*” (FLORA DO BRASIL, 2020), o que é discutido por Büneker *et al.* (2020)<sup>1</sup>, pela espécie *D. selloa* ser aquela incluída no agrupamento que possui o binômio mais antigo. Além disso, Troleis (2018), ao apresentar sua subdivisão do grupo, propõe a nomenclatura de “*complexo maritima*” para um ramo da subdivisão e “*complexo alba*” para outro. Baseada nos dados palinológicos aqui obtidos, a sugestão é pelo mantimento da nomenclatura do grupo como inicialmente estabelecido, ou seja, “*complexo maritima*”. A sugestão tem ao menos quatro razões: a espécie *D. maritima* possui centralidade na ordenação geral das Figuras 5 e 6; a espécie também apresenta características bastante comuns às demais espécies do grupo, sendo bastante representativa (Tabela 3); a antiguidade do nome e a tradição já a ele vinculada; e, *D. selloa* está aqui sendo considerada como externa ao restante do “complexo”, pelas razões já expostas.

---

<sup>1</sup> No prelo.

## 5 CONCLUSÕES

Os grãos de pólen das espécies atualmente pertencentes ao complexo informal “marítima” (BUNEKER *et al.*, 2015) apresentam diversas características comuns e de um modo geral são bastante semelhantes. Todas as espécies apresentaram grãos de pólen oblados, heteropolares, com tamanho médio e sulcados com sulco do tipo simples. Além disso, exina e intina apresentaram estratificação idêntica. Todas as espécies possuem nexina e sexina, composta por columelas e teto. Não foram observados elementos supra-tectais. Algumas observações da intina indicaram estratificação da camada com a presença de três ou quatro sub-estratos. Sugere-se a realização de estudos adicionais para a melhor compreensão da estratificação da intina.

À parte todas as semelhanças descritas, algumas características apresentaram variação. Dentre elas, o maior destaque é a ornamentação da exina. Este caráter é bastante tradicional em palinologia e as espécies apresentaram variação considerável, o que é bastante relevante por se tratar de espécies de um mesmo gênero. Foram identificados os padrões: reticulado (oito espécies), microrreticulado (três espécies), reticulado com grânulos livres ou birreticulado (uma espécie – *D. alba*), reticulado com regiões com descontinuidades no retículo (uma espécie – *D. myriostachya*) e reticulado com generalizada descontinuidade no retículo (uma espécie – *D. tomentosa*). Caso a ornamentação da espécie *D. alba* seja descrita como birreticulada, é uma descrição inédita em Bromeliaceae. Quanto à ornamentação das espécies *D. myriostachya* e *D. tomentosa*, não há na literatura tipologia pré-estabelecida para sua descrição resumida. Assim sugerimos a terminologia “retículo parcialmente descontínuo” (*D. myriostachya*) e “retículo descontínuo” (*D. tomentosa*). Uma das sugestões do presente trabalho é que sejam realizadas pesquisas com metodologias que permitam uma análise ainda mais aprofundada nas espécies que apresentaram peculiaridades, como a exploração da deposição de exina nos lumes da espécie *D. alba*, por exemplo.

As outras variações foram encontradas na margem da abertura e na posição da célula generativa e do núcleo da célula vegetativa dentro do grão de pólen. A margem da abertura é um caráter importante em Bromeliaceae. No entanto, no presente trabalho a identificação inequívoca das tipologias existentes na literatura não foi de fácil realização. Assim, o trabalho adotou a identificação de dois tipos de

margem: Tipo “*Puya*”, tradicionalmente descrita para o gênero, e tipo “*Outra*”, que é uma forma resumida de apontar espécies em que a tradicional margem do tipo “*Puya*” não é facilmente identificável. Sugere-se a realização de estudos abrangentes na família para atualização e melhor estabelecimento das tipologias existentes, proposição de novas tipologias, e/ou estabelecimento de tipologias intermediárias.

Seguindo as características palinológicas das espécies amostradas, sugere-se o reconhecimento definitivo das espécies *D. myriostachya*, *D. tomentosa* e *D. polyclada*, fato ainda não pacífico na literatura (FLORA DO BRASIL, 2020; GOUDA; BUTCHER, 2020). Além disso, o trabalho não incentiva o estabelecimento do proposto “*complexo marítima*”. No entanto, os dados aqui trabalhados são exclusivamente palinológicos, portanto incapazes de estabelecimentos taxonômicos definitivos. Caso se mantenha o agrupamento em um “complexo”, se endossa a nomenclatura tradicional “*complexo marítima*”. Porém, diferente dos trabalhos de Büneker *et al.* (2015) e Troleis (2018), entendemos pela exclusão das espécies *D. selloa* e *D. tomentosa*.

Por fim, por meio do presente trabalho, além dos resultados alcançados, é possível a identificação de possibilidades e mesmo necessidades de aprofundamentos. Conforme já mencionado, estudos que revisem a margem da abertura na família são importantes para a melhor compreensão do caráter. Associada a esta necessidade está a revisão dos tipos de sulco simples e aprofundamentos a respeito de detalhes na deposição de camadas na abertura. Além disso, várias características do infrateto podem ser melhor exploradas, com a utilização de metodologias adequadas, assim como a análise da estratificação da intina. Ainda, a exploração do fenômeno de harmomegatia e suas relações com a polinização pode ser objeto de estudo e a identificação de grãos de amido e de um deslocamento da célula germinativa e do núcleo da célula vegetativa para região oposta à abertura nas espécies amostradas podem ser melhor analisados.

## REFERÊNCIAS

- APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181 p. 1-20, 2016.
- BARFUSS, M. H. J. *et al.* Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 20, p. 337-351, 2005.
- \_\_\_\_\_, *et al.* 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.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae**: profile of an adaptive radiation. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- BOUCHENAK-KHELLADI, Y.; MUASYA, A. M.; LINDER H. P. A revised evolutionary history of Poales: origins and diversification. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 175, p. 4-16, 2014.
- BROWN, G. K.; GILMARTIN, A. J. Stigma structure and variation in Bromeliaceae: neglected taxonomic characteres. **Brittonia**, v. 36, n. 4, p. 364-374, 1984.
- \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Stigma types in Bromeliaceae: A systematic survey. **Systematic Botany**, v. 14, n. 1, p. 110-132, 1989.
- \_\_\_\_\_; TERRY, R. G. Petal appendages in Bromeliaceae. **American Journal of Botany** v. 79, n. 9, p. 1051-1071, 1992.
- BÜNEKER, H. M. *et al.* Taxonomic study of *Dyckia maritima complex* (Bromeliaceae, Pitcairnioideae): Preliminary results. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. 66., 2015, Santos. **Pôster**, 2015.
- CARVALHO, J. D. T. *et al.* Stamen morphoanatomy of *Dyckia* Schult.f. (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) species: new data for taxonomic use. **Acta Botanica Brasílica**. v. 30, n. 3, p. 389-400, 2016.
- CRAYN, D. M.; WINTER K.; SMITH A. C. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 101, n. 101, p. 3703-8, 2004.
- DETTKE, G. A.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Anatomia vegetativa de *Bromelia antiacantha* Bertol. (Bromeliaceae, Bromelioideae). **Balduinia**, n. 13, p.1-14, 2008.
- DETTKE, A. G. **Anatomia comparada da antera de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) do Rio Grande do Sul**. 2009. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- ENDRESS, P. K. Links between embryology and evolutionary floral morphology. **Current Science**, v. 89, p. 749-754, 2005.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms**. Stockholm: Almqvist & Wiksell, 1952.

ESCOBEDO-SARTI, J. *et al.* A phylogeny of Bromeliaceae (Poales, Monocotyledoneae) derived from an evaluation of nine supertree methods. **Journal of Systematics and Evolution**, v. 51, p. 744-757, 2013.

EVANS, D. E. *et al.* The interrelationship between the accumulation of lipids, protein and the level of acyl carrier protein during the development of *Brassica napus* L. pollen. **Planta**. v. 186. p. 343-54, 1992.

FAEGRI, K. Recent trends in palynology. **Botanical review**. v. 22, n. 9, p. 639-664, 1956.

\_\_\_\_\_; IVERSEN, J. **Textbook of Modern Pollen Analysis**. Copenhagen: Ejnar Munksgaard, 1950.

\_\_\_\_\_. *et al.* **Pollen Terminology**: an illustrated handbook. Austria: Springer Nature, 2009.

FORZZA, R. C. Revisão taxonômica de *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. (Pitcairnioideae – Bromeliaceae). **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** v. 23, n. 1, p. 1-49, 2005.

**FLORA DO BRASIL 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 13 jul. 2020.

GERRITS, P. O.; SMITH, L. A new, less toxic polymerization for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**. v. 132, n. 1, p. 81-85, 1983.

GERSTERBERGER, P.; LINS, P. Rasterelektronmikroskopische untersuchungen na blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae): anwendung einer neuen präparations methode. **Berichete der Deutschen Botanischen Gasellschaft**. v. 91, p. 381-7, 1978.

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

\_\_\_\_\_. *et al.* Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany**, v. 98, n.5, p. 1-24, 2011.

\_\_\_\_\_. *et al.* Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 71, p. 55-78, 2014.

GOMES-DA-SILVA, J.; SANTOS-SILVA, F.; FORZZA, R. C. Does nomenclatural stability justify para/polyphyletic taxa? A phylogenetic classification in the xeric clade Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Systematics and Biodiversity**, v. 17, n. 5, p. 467-490, 2019.

GOMES-DA-SILVA, J.; AMORIM, A. M.; FORZZA, R. C. Distribution of the xeric clade species of Pitcarnioideae (Bromeliaceae) in South America: a perspective based on areas of endemism. **Journal of Biogeography**, v. 44, p. 1994-2006, 2017.

GOUDA, E. J.; BUTCHER, D. (cont. updated). **A list of accepted Bromeliaceae names**. Disponível em: [<http://bromeliad.nl/bromNames/>]. University Botanic Gardens, Utrecht. Acesso em: 03-11-2020.

HAFIDH, S.; FILA, J.; HONY, D. Male gametophyte development and function in angiosperms: a general concept. **Plant Reproduction**, v. 29, p. 31-51, 2016.

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

\_\_\_\_\_.; HESSE, M. Sulcus morphology in some monocot families. **Grana**, v. 32, p. 87-99, 1993.

\_\_\_\_\_. Preparing living pollen material for scanning electron microscopy using 2,2-dimethoxypropane (DMP) and critical-point drying. **Biotechnic and Histochemistry**, v. 73, p. 137-143, 1998.

\_\_\_\_\_. 2015. *Brocchinia reducta*. In: **PalDat – A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Brocchinia\\_reducta/300138](https://www.palдат.org/pub/Brocchinia_reducta/300138); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016a. *Dyckia pernambucana*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Dyckia\\_pernambucana/300849](https://www.palдат.org/pub/Dyckia_pernambucana/300849); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016b. *Dyckia paraensis*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Dyckia\\_paraensis/300302](https://www.palдат.org/pub/Dyckia_paraensis/300302); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016c. *Fosterella windischii*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Fosterella\\_windischii/300319](https://www.palдат.org/pub/Fosterella_windischii/300319); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016d. *Pitcairnia flammea*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Pitcairnia\\_flammea/300334](https://www.palдат.org/pub/Pitcairnia_flammea/300334); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016e. *Alcantarea nigripetala*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Alcantarea\\_nigripetala/300786](https://www.palдат.org/pub/Alcantarea_nigripetala/300786); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016f. *Catopsis floribunda*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Catopsis\\_floribunda/301330](https://www.palдат.org/pub/Catopsis_floribunda/301330); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016g. *Hechtia texensis*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Hechtia\\_texensis/300389](https://www.palдат.org/pub/Hechtia_texensis/300389); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016h. *Puya floccosa*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Puya\\_floccosa/300712](https://www.palдат.org/pub/Puya_floccosa/300712); accessed 2020-04-10.

\_\_\_\_\_. 2016i. *Dyckia fosteriana*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Dyckia\\_fosteriana/300325](https://www.palдат.org/pub/Dyckia_fosteriana/300325); accessed 2020-04-20.

- \_\_\_\_\_. 2016j. *Catopsis juncifolia*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Catopsis\\_juncifolia/300687](https://www.palдат.org/pub/Catopsis_juncifolia/300687); accessed 2020-04-20.
- \_\_\_\_\_. 2016k. *Catopsis subulata*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Catopsis\\_subulata/300321](https://www.palдат.org/pub/Catopsis_subulata/300321); accessed 2020-04-20.
- \_\_\_\_\_. 2016m. *Puya dasylirioides*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Puya\\_dasylirioides/301059](https://www.palдат.org/pub/Puya_dasylirioides/301059); accessed 2020-04-20.
- \_\_\_\_\_. 2016n. *Dyckia maritima*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Dyckia\\_maritima/301060](https://www.palдат.org/pub/Dyckia_maritima/301060); accessed 2020-04-22.
- \_\_\_\_\_. 2016o. *Dyckia retroflexa*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Dyckia\\_retroflexa/300320](https://www.palдат.org/pub/Dyckia_retroflexa/300320); accessed 2020-04-22.
- \_\_\_\_\_. 2016p. *Pitcairnia albiflos*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Pitcairnia\\_albiflos/300898](https://www.palдат.org/pub/Pitcairnia_albiflos/300898); accessed 2020-04-24.
- \_\_\_\_\_. 2016q. *Dyckia hebdingii*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Dyckia\\_hebdingii/300847](https://www.palдат.org/pub/Dyckia_hebdingii/300847); accessed 2020-04-23.
- \_\_\_\_\_. 2016r. *Dyckia ursina*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Dyckia\\_ursina/300365](https://www.palдат.org/pub/Dyckia_ursina/300365); accessed 2020-04-23.
- \_\_\_\_\_; TILL, W. 2016. *Quesnelia augusto-coburgii*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Quesnelia\\_augusto-coburgii/301066](https://www.palдат.org/pub/Quesnelia_augusto-coburgii/301066); accessed 2020-04-24.
- \_\_\_\_\_. 2017a. *Encholirium pedicellatum*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Encholirium\\_pedicellatum/302915](https://www.palдат.org/pub/Encholirium_pedicellatum/302915); accessed 2020-04-10.
- \_\_\_\_\_. 2017b. *Deuterocohnia meziana*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Deuterocohnia\\_meziana/303017](https://www.palдат.org/pub/Deuterocohnia_meziana/303017); accessed 2020-04-10.
- \_\_\_\_\_. 2019a. *Aechmea incompta*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Aechmea\\_incompta/303558](https://www.palдат.org/pub/Aechmea_incompta/303558); accessed 2020-04-24.
- \_\_\_\_\_. 2019b. *Billbergia euphemiae*. In: **PalDat - A palynological database**. [https://www.palдат.org/pub/Billbergia\\_euphemiae/303470](https://www.palдат.org/pub/Billbergia_euphemiae/303470); accessed 2020-04-24.
- HESSE, M.; WAHA M. A new look at the acetolysis method. **Plant Systematics and Evolution**. v. 163, n. 3, p. 147-152, 1989.
- \_\_\_\_\_. Pollen wall stratification and pollination. **Plant Systematics and Evolution**. v. 222, n. 1, p. 1-17, 2000.
- \_\_\_\_\_. *et al.* **Pollen Terminology**: an illustrated handbook. Austria: Springer Nature, 2009.
- HORRES, R. *et al.* Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from trnL (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. **Plant biol.** v. 2, p. 306-315, 2000.

HORRES, R. *et al.* Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae) – evidence from molecular and anatomical studies. **Aliso**, v. 23, p. 27-43, 2007.

HUGHES, J.; MCCULLY M. E. The use of an optical brightener in the study of plant structure. **Stain Technology**. v. 50, n. 3, p. 319-29, 1975.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: MacGraw-Hill, 1940.

JUDD, W.S. *et al.* **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KRAPP, F. *et al.* Phylogeny and evolution of *Dyckia* (Bromeliaceae) inferred from chloroplast and nuclear sequences. **Plant Syst. Evol.** v. 300, p. 1591-1614, 2014.

KUHN, S. A. **Anatomia e morfologia comparada do gineceu e androceu em Tillandsioideae Harms (Bromeliaceae) e suas tendências evolutivas na família**. 2015. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

KULKARNI, R. A.; PAI, R. M. The floral anatomy of *Puya spathacea* Mez. (Bromeliaceae) with special reference to nectaries. **Proceedings of Indian Academy of Sciences** v. 91, n. 6, p. 473-8, 1982.

LEME, E. M. C. Revision of the lithophytic *Vriesea* species from Minas Gerais State, Brazil: Part I. **Journal of the Bromeliad Society**. v. 46, n. 6, p. 244-246, 1996.

\_\_\_\_\_. **Canistrum: Bromélias da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro, Salamandra, 1997.

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

\_\_\_\_\_; MARIGO, L. C. **Bromélias na natureza**. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação Visual Ltda, 1993.

LUTHER, H. E. An Alphabetical List of Bromeliad Binomials. **Bromeliad Society International**, 14. ed., 2014.

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

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

MARIATH, J. E. A.; SANTOS, R. P.; BITTENCOURT, N. S. Flor. *In*: APPEZZATO-DA-GLORIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (eds.). **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Editora UFV, 2ª ed., 2006.

- MARTINELLI, G. Manejo de populações e comunidades vegetais: um estudo de caso na conservação de Bromeliaceae. *In*: ROCHA, C. F. D. *et al.* (orgs.). **Biologia da conservação**: essências. São Carlos: Editora Rima, p. 479-503, 2006.
- MCDOWELL, E. M.; TRUMP B.F. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology and Laboratory of Medicine**, v. 1000, p. 405-414, 1976.
- MESTRE, L. A. M.; ARANHA, J. M. R.; ESPER, M. L. P. Macroinvertebrate fauna associated to the bromeliad *Vriesea inflata* of Atlantic Forest (Parana state, southern Brazil). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 44, p. 89-94, 2001.
- MULLER, J. Form and function in angiosperm pollen. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 66, n. 4, p. 593-632, 1979.
- NEPI, M.; FRANCHI, G. G. Cytochemistry of mature angiosperm pollen. **Plant Systematics and Evolution**. v. 222, p. 45-62, 2000.
- NOGUEIRA F. M. *et al.* Ovary and ovule anatomy in the nidularioid complex and its taxonomic utility (Bromelioideae-Bromeliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 1, p. 66-77, 2015.
- \_\_\_\_\_. *et al.* Heat transfer in the tank-inflorescence of *Nidularium innocentii* (Bromeliaceae): Experimental and finite element analysis based on X-ray microtomography. **Micron**, v. 124, p. 1-11, 2019.
- \_\_\_\_\_. **Estudo da arquitetura da inflorescência nos gêneros nidularioides Bromelioideae (Bromeliaceae)**. 2017. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.
- O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. **The study of plant structure**: principles and selected methods. Melbourne: Termarcaphi Pty, 1981.
- OLIVEIRA, M. G. N.; ROCHA, C. F. D. O efeito da complexidade da bromélia tanque *Neoregelia cruenta* (R. Graham) L.B. Smith sobre a comunidade animal associada. **Revista Bromélia**, v. 4, n. 2, p. 13–21, 1997.
- OLIVEIRA, J. M. S. *et al.* Starch distribution in anthers, microspores and pollen grains in *Aechmea recurvata* (Klotzsch) L.B.Sm., *Dyckia racinae* L.B.Sm. and *Tillandsia aeranthus* (Loisel.) L.B.Sm. (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n. 1, p. 103-112, 2015.
- PALDAT - a palynological database** (2000 onwards, [www.paldat.org](http://www.paldat.org)). Acesso em: 12 de março de 2020.
- PINANGÉ, D. S. B. *et al.* Molecular phylogenetics, historical biogeography and character evolution in *Dyckia* (Bromeliaceae, Pitcairnioideae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, p. 1-18, 2016.
- PIRE, S. M.; SCHININI, A. Estudio palinológico de las Bromeliaceae del noreste argentino. *In*: SIMPOSIO ARGENTINO PALEOBOTÂNICO E PALINOLOGIA. 1992,

- Buenos Aires, **Publicación Especial 2**, Asociación Paleontología Argentina, 1992. p. 89-90.
- PITA, P. B.; MENEZES, N. L. Anatomia da raiz de espécies de *Dyckia* Schult. F. e *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil), com especial referência ao velame. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 1, p. 25-34, 2002.
- POREMBSKI, S.; BARTHLOTT, W. *Pitcairnia feliciana*: the only indigenous African bromeliad. **Harvard Papers in Botany**, v. 4, n. 1, p. 175-184, 1999.
- PROENÇA, S. L.; SAJO, M. G. Estrutura foliar de espécies de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) do estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 2, p. 319-331, 2004.
- \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Anatomy of the oral scape of Bromeliaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n. 3, p. 399-408, 2008.
- PUNT, W. *et al.* Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Paleobotany and Palynology**, v. 143, p. 1-81, 2007.
- RAYNALD, J.; RAYNALD, A. Une technique de preparation des grains de pollen fragiles. **Adansonia**, v. 11, p. 77-79, 1971.
- REITZ, R. **Bromeliáceas e a Malária**: Bromélia endêmica. Itajaí: Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues, 1983.
- RICHARDO, J.; SILVERIO, A. New trends in *Passiflora* L. pollen grains: morphological/aperture aspects and wall layer considerations. **Protoplasma**, v. 256, p. 923-939, 2019.
- ROBINSON, H. A monograph on foliar anatomy of the genera *Connelia*, *Cottendorfia* and *Navia* (Bromeliaceae). **Smithsonian Contributions to Botany**, v. 2, p. 1-141, 1969.
- RUSSIN, W. A.; TRIVETT, C. L. Vacuum-microwave combination for processing plant tissues for electron microscopy. *In*: GIBERSON, R. T.; DEMAREE, R. S. (ed.). **Microwave techniques and protocols**. Totowa: Humana Press Inc., p. 25-35, 2001.
- SAJO, M. G. *et al.* Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. **Grana**, v. 44, p. 65-74, 2005.
- \_\_\_\_\_; PRYCHID, C. J.; RUDALL, P. J. Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. **Kew Bulletin**, v. 59, p. 261-267, 2004a.
- \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. **Plant Systematics and Evolution**, v. 247, p. 215-231, 2004b.
- SALGADO-LABOURIAU, M. L. **Contribuição à palinologia dos cerrados**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1973.

- SANTOS, R. P. A new and simple cryosectioning protocol for pollen analysis under light microscopy. *In*: MENDEZ-VILAS, A. (ed.). **Microscopy and imaging Science: practical approaches to applied research and education**. Spain: Formatex Research Center, p. 3-10, 2017.
- SANTOS-TEIXEIRA, K. C. C. *et al.* Palynotaxonomy of *Aechmea* subgenus *Ortgiesia* (Regel) Mez (Bromeliaceae, Bromelioideae). **Grana**, v. 59, n. 6, p. 399-427, 2020.
- SCATENA, V. L.; SEGECIN, S. Anatomia foliar de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, p. 635-649, 2005.
- SCHULTE, K.; ZIZKA, G. Multi locus plastid phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) and the taxonomic utility of petal appendages and pollen characters. **Candollea**, v. 63, p. 209-225, 2008.
- SCHUTZ, N. *et al.* Phylogenetics of Pitcairnioideae s.s.(Bromeliaceae): evidence from nuclear and plastid DNA sequence data. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, p. 323-342, 2016.
- SEGECIN, S.; SCATENA, V. L. Anatomia de escapos de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) dos Campos Gerais do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, p. 515-525, 2004.
- SILVA, V. J. D. *et al.* Ultrastructure and pollen morphology of Bromeliaceae species from the Atlantic Rainforest in Southeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 1 (supl.), p. 439-449, 2016.
- SMITH L. B.; DOWNS R. J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *In*: **Flora Neotropica Monograph**. New York: Hafner Press, 1974.
- \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Bromelioideae (Bromeliaceae). *In*: **Flora Neotropica**. New York: New York Botanical Garden, 1979.
- \_\_\_\_\_; TILL, W. Bromeliaceae. *In*: KUBITZKI, K. (ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants IV**. New York: Springer, p.74-99, 1998.
- SOUTHWORTH, D. Cytochemical reactivity of pollen walls. **The journal of histochemistry and cytochemistry**, vol. 21, n. 1, p. 73-80, 1973.
- SOUZA, F. C.; MENDONÇA, C. B. F.; GONÇALVES-ESTEVEZ, V. Estudo polínico de espécies de Pitcairnioideae e Tillandsioideae (Bromeliaceae Juss.) ocorrentes na restinga de Carapebus, estado do Rio de Janeiro. **Arquivos do Museu Nacional**. v. 62, n. 1, p. 15-23, 2004.
- STEVENS, P. F. (2001 onwards). Poales. *In*: **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. Disponível em : <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 14 julho 2020.
- STREHL, T. Forma, distribuição e flexibilidade dos tricomas foliares usados na filogenia de Bromeliaceas. **Iheringia**, série Botânica, v. 31, p. 105-119, 1983.

\_\_\_\_\_; BEHEREGARAY, L. B. Morfologia de sementes do Gênero *Dyckia* subfamília Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Pesquisas Botânicas**, v. 57, p. 103-120, 2006.

TROLEIS, J. **Morfoanatomia foliar de espécies de Dyckia do “complexo marítima” (Pitcairnioideae-Bromeliaceae)**. 2018. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

TOBE, H. The embryology of Angiosperms: its broad application to the systematic and evolutionary study. **The Botanical magazine Tokyo**, v. 102, p. 351-367, 1989.

TOMLINSON, P. B. III - Commelinales-Zingiberales. *In*: METCALFE, C. R. (ed.) **Anatomy of the Monocotyledons**. Oxford: Clarendon Press, v.3, p.1-446, 1969.

WANDERLEY, M. G. L.; MELHEN, T. S. Flora polínica da reserva do parque estadual das fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil). **Hoehnea**, v. 18, n. 1, 1991.

ZIZKA, A. *et al.* Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). **Diversity and Distributions**, v. 26, n. 2, p. 183-195, 2020.