



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO
EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS



SANDRA DE OLIVEIRA SOUZA

CONSERVAÇÃO DE GRÃOS DE PÓLEN E ESTUDOS
REPRODUTIVOS EM BROMELIACEAE

Feira de Santana - BA

2025

SANDRA DE OLIVEIRA SOUZA

**CONSERVAÇÃO DE GRÃOS DE PÓLEN E ESTUDOS REPRODUTIVOS EM
BROMELIACEAE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção de título de Doutora em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Claudinéia Regina Pelacani Cruz

Coorientador: Dr. Everton Hilo de Souza

Coorientadora: Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza

Feira de Santana - BA

2025

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó – UEFS

Souza, Sandra de Oliveira
S718c Conservação de grãos de pólen e estudos reprodutivos em Bromeliaceae
/ Sandra de Oliveira Souza. - 2025.
96f. : il.

Orientadora: Claudinéia Regina Pelacani Cruz

Coorientador: Everton Hilo de Souza

Coorientadora: Femanda Vidigal Duarte Souza

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2025.

1. Bromélia. 2. Bromelioideae. 3. Tillandsioideae. 4. Criopreservação.
5. Polinização controlada. 6. Reprodução. I. Cruz, Claudinéia Regina
Pelacani, orient. II. Souza, Everton Hilo de, coorient. III. Souza, Femanda
Vidigal Duarte, coorient. IV. Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. V. Título.

CDU: 582.564

Rejane Maria Rosa Ribeiro – Bibliotecária CRB-5/695

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente

MILEIDE DOS SANTOS FERREIRA

Data: 17/12/2025 18:12:23-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Mileide dos Santos Ferreira
(Pós Doutoranda – Embrapa Mandioca e Fruticultura)



Documento assinado digitalmente

YSLAI SILVA PEIXOUTO

Data: 18/12/2025 08:40:30-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Yslai Silva Peixoto (IF Baiano)



Documento assinado digitalmente

MICHELE DOS SANTOS FERREIRA

Data: 17/12/2025 18:38:37-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Michele dos Santos Ferreira (Bolsista DTI – Embrapa Mandioca e Fruticultura)



Documento assinado digitalmente

JOSE RANIERE FERREIRA DE SANTANA

Data: 18/12/2025 12:47:03-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Ranieri Ferreira de Santana (Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)



Documento assinado digitalmente

CLAUDINEIA REGINA PELACANI CRUZ

Data: 17/12/2025 17:50:54-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Claudinéia Regina Pelacani Cruz (Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS) Orientadora e Presidente da Banca

Feira de Santana – BA

2025

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) pelo suporte no desenvolvimento das atividades de pesquisa.

À Embrapa Mandioca e Fruticultura pela disponibilização da infraestrutura para realização dos experimentos.

Aos professores e colaboradores da UEFS que tornaram essa etapa de aprendizado possível.

Aos amigos e colegas do curso de Recursos Genéticos Vegetais.

À professora Dra. Claudinéia Regina Pelacani Cruz pela orientação e confiança.

Ao professor Dr. Everton Hilo de Souza, pela coorientação, dedicação, ensinamentos e paciência.

À pesquisadora Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza pela coorientação.

Aos amigos, em especial a Rafaelle e Railson pelo apoio e companheirismo.

À minha mãe Marinalva pelo apoio, compreensão e amor.

Ao meu filho Cauê por ter iluminado a minha vida desde que chegou.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

CONSERVAÇÃO DE GRÃOS DE PÓLEN E ESTUDOS REPRODUTIVOS EM BROMELIACEAE

RESUMO: A conservação da biodiversidade e o manejo reprodutivo de espécies, principalmente ameaçadas são desafios centrais para a manutenção da riqueza genética das plantas. No caso das Bromeliaceae, muitos táxons apresentam floração assíncrona, microendemismo e barreiras reprodutivas que podem comprometer a produção de sementes viáveis, dificultando estratégias de conservação e programas de melhoramento genético. Nesse contexto, compreender os sistemas reprodutivos e desenvolver métodos eficientes de conservação de grãos de pólen são fundamentais para garantir a persistência das populações e a proteção do patrimônio genético dessas espécies. Esta tese teve como objetivo aprofundar o conhecimento sobre a conservação de grãos de pólen e os sistemas reprodutivos de espécies de Bromeliaceae, fornecendo subsídios científicos para orientar ações de conservação e manejo. O trabalho está estruturado em dois capítulos. O primeiro, intitulado “Criopreservação para estabelecimento de um criobanco de grãos de pólen de espécies ameaçadas de extinção de *Lymania* Read (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil”, teve como objetivo definir as melhores condições de desidratação e armazenamento de grãos de pólen para viabilizar sua conservação a longo prazo. Foram avaliadas oito espécies de *Lymania*, submetendo os grãos de pólen a diferentes períodos de desidratação em sílica gel e armazenamento em freezer (-5 °C) e criopreservação em nitrogênio líquido (-196 °C). A viabilidade foi analisada in vitro e in vivo, e a produção de frutos, sementes e germinação monitorada, com aclimatização das plantas regeneradas. Os resultados mostraram que os grãos de pólen permaneceram viáveis após 365 dias de criopreservação, com viabilidade acima de 89,5% e comprimento de tubo polínico superior a 0,97 mm. O armazenamento em freezer comprometeu a viabilidade após 30 dias. As polinizações in vivo resultaram em alta frutificação (>75%) e sementes viáveis, com germinação iniciando no quarto dia e estabilizando-se em torno de 15 dias. A taxa de sobrevivência das plantas após aclimatização foi superior a 89%, permitindo a implementação de um criobanco funcional. O segundo capítulo, intitulado “Sistemas reprodutivos de espécies de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) ocorrentes no Estado da Bahia, Brasil”, objetivou identificar os sistemas reprodutivos de 14 espécies, avaliar barreiras pré- e pós-zigóticas e quantificar frutificação e germinação após cruzamentos controlados. Foram realizados experimentos de polinização natural, autopolinização espontânea, autopolinização artificial, polinização cruzada e verificação de agamospermia, com análise do crescimento do tubo polínico por microscopia de fluorescência e germinação in vitro das sementes geradas. Os resultados indicaram predominância de alogamia, com dez espécies exibindo sistemas mistos e quatro espécies sendo alógamas obrigatórias. Nenhuma espécie apresentou agamospermia. A polinização cruzada resultou em frutificação superior a 80% e até 359 sementes por fruto, enquanto as sementes apresentaram alta germinação ($\geq 77\%$) e vigor das plântulas, independentemente do sistema reprodutivo. Em conjunto, os achados evidenciam ampla flexibilidade reprodutiva no gênero *Tillandsia* e demonstram que a criopreservação é uma ferramenta eficiente para conservação de grãos de pólen de *Lymania*, oferecendo subsídios valiosos para estratégias de conservação, manejo reprodutivo, especialmente para espécies endêmicas e ameaçadas no Brasil.

Palavras-Chave: Bromélia, Tillandsioideae, Bromelioideae, Criopreservação; Polinização controlada; Reprodução.

CONSERVATION OF POLLEN GRAINS AND REPRODUCTIVE STUDIES IN BROMELIACEAE

ABSTRACT: The conservation of biodiversity and the reproductive management of species, especially threatened ones, are central challenges for maintaining the genetic richness of plants. In the case of Bromeliaceae, many taxa exhibit asynchronous flowering, microendemism, and reproductive barriers that can compromise the production of viable seeds, hindering conservation strategies and genetic improvement programs. In this context, understanding reproductive systems and developing efficient methods for pollen grain conservation are fundamental to ensuring the persistence of populations and the protection of the genetic heritage of these species. This thesis aimed to deepen the knowledge about the conservation of pollen grains and the reproductive systems of Bromeliaceae species, providing scientific support to guide conservation and management actions. The work is structured in two chapters. The first study, entitled "Cryopreservation for the establishment of a cryobank of pollen grains from endangered species of *Lymania* Read (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil", aimed to define the best conditions for dehydration and storage of pollen grains to enable their long-term conservation. Eight *Lymania* species were evaluated, subjecting the pollen grains to different periods of dehydration in silica gel and storage in a freezer (-5°C) and cryopreservation in liquid nitrogen (-196°C). Viability was analyzed *in vitro* and *in vivo*, and fruit and seed production and germination were monitored, with acclimatization of the regenerated plants. The results showed that the pollen grains remained viable after 365 days of cryopreservation, with viability above 89.5% and pollen tube length greater than 0.97 mm. Freezer storage compromised viability after 30 days. *In vivo* pollinations resulted in high fruit set (>75%) and viable seeds, with germination starting on the fourth day and stabilizing around 15 days. The survival rate of plants after acclimatization was greater than 89%, allowing the implementation of a functional cryobank. The second chapter, entitled "Reproductive systems of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) species occurring in the State of Bahia, Brazil," aimed to identify the reproductive systems of 14 species, evaluate pre- and post-zygotic barriers, and quantify fruit set and germination after controlled crosses. Experiments were conducted on natural pollination, spontaneous self-pollination, artificial self-pollination, cross-pollination, and verification of agamospermy, with analysis of pollen tube growth by fluorescence microscopy and *in vitro* germination of the generated seeds. The results indicated a predominance of allogamy, with ten species exhibiting mixed systems and four species being obligate allogamous. No species exhibited agamospermy. Cross-pollination resulted in fruit set exceeding 80% and up to 359 seeds per fruit, while the seeds showed high germination ($\geq 77\%$) and seedling vigor, regardless of the reproductive system. Taken together, the findings demonstrate broad reproductive flexibility in the genus *Tillandsia* and show that cryopreservation is an efficient tool for conserving *Lymania* pollen grains, offering valuable support for conservation strategies and reproductive management, especially for endemic and threatened species in Brazil.

Keywords: Bromeliad, Tillandsioideae, Bromelioideae, Cryopreservation; Controlled pollination; Reproduction.

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL	9
REVISÃO DE LITERATURA	12
A família Bromeliaceae	12
Caracterização Morfológica em Bromeliaceae	13
Importância da família Bromeliaceae	15
Conservação de grãos de pólen em Bromeliaceae	17
Sistemas reprodutivos em Bromeliaceae	19
REFERÊNCIAS	22
CAPÍTULO 1.....	28
Criopreservação para estabelecimento de um criobanco de grãos de pólen de espécies de <i>Lymania</i> Read (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção	28
INTRODUÇÃO	31
MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
<i>Material Vegetal</i>	34
<i>Desidratação dos grãos de pólen</i>	36
<i>Delineamento experimental e análise dos dados</i>	37
<i>Conservação dos grãos de pólen</i>	37
<i>Germinação in vitro de grãos de pólen</i>	37
<i>Delineamento experimental e análise dos dados</i>	37
<i>Fertilização in vivo</i>	38
<i>Germinação das sementes</i>	38
<i>Aclimatização das mudas</i>	39
<i>Estabelecimento de um criobanco</i>	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
CAPÍTULO 2.....	58
Sistemas Reprodutivos de espécies de <i>Tillandsia</i> L. (Bromeliaceae) ocorrentes no Estado da Bahia, Brasil.....	58
INTRODUÇÃO	61
MATERIAIS E MÉTODOS.....	64
<i>Material vegetal</i>	64
<i>Sistemas reprodutivos</i>	67
<i>Desenvolvimento do tubo polínico no pistilo</i>	68
<i>Germinação das sementes</i>	69

RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
<i>Sistemas reprodutivos.....</i>	<i>70</i>
<i>Desenvolvimento do tubo polínico no pistilo.....</i>	<i>76</i>
<i>Germinação das sementes</i>	<i>82</i>
CONCLUSÃO	88
REFERÊNCIAS	89
CONSIDERAÇÕES FINAIS	95

INTRODUÇÃO GERAL

A família Bromeliaceae, composta por 3.835 espécies (Gouda et al., 2025, atualização contínua) distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, representa uma das famílias mais diversificadas e ecologicamente importantes, sendo representada por plantas terrestres, rupícolas e epífitas (Leme; Siqueira-Filho, 2006). As espécies desempenham papéis essenciais nos ecossistemas onde ocorrem, atuando como fontes de alimento para diversos animais, contribuindo para a estabilidade do solo e participando de complexas redes de interação ecológica (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023). Além da importância ecológica, diversas espécies possuem características ornamentais que as tornam valiosas para a conservação e o uso humano na floricultura e paisagismo (Benzing, 2000). Entender os processos reprodutivos dessas espécies é fundamental para a conservação de sua diversidade genética e para o manejo sustentável de suas populações.

Os mecanismos de formação de grãos de pólen, polinização e dispersão de sementes são aspectos centrais nesse contexto, pois influenciam diretamente na capacidade de reprodução, adaptação e sobrevivência das espécies (Nascimento et al., 2025). Nesse sentido, a conservação de grãos de pólen emerge como uma ferramenta poderosa para preservar a variabilidade genética dessas espécies, especialmente diante das crescentes pressões ambientais, como o desmatamento, a urbanização e as mudanças climáticas (Souza et al., 2015). Desta forma, a criopreservação de grãos de pólen reveste-se de importância estratégica, pois permite preservar a variabilidade genética e a viabilidade reprodutiva frente às restrições naturais e antropogênicas, como floração assimétrica entre populações, corredores ecológicos reduzidos em ambientes fragmentados, e risco de extinção de espécies (Souza et al., 2018).

Apesar desse potencial, ainda faltam protocolos consolidados, eficientes e validados para a criopreservação de grãos de pólen em Bromeliaceae, especialmente para espécies ameaçadas e microendêmicas, que apresentam assincronia de floração, baixa densidade populacional e restrições reprodutivas naturais. Essa lacuna limita o desenvolvimento de criobancos funcionais e a manutenção da variabilidade genética necessária para a sobrevivência do grupo. Em estudo realizado por Souza et al. (2018) com espécies de Bromeliaceae, observou-se que os grãos de pólen mantêm elevada viabilidade após processos de desidratação seguidos de imersão em nitrogênio líquido. Além disso, os grãos de pólen criopreservados demonstraram capacidade de originar sementes viáveis por meio

de polinizações *in vivo*. Esses resultados reforçam a importância de investigar e aprimorar técnicas de criopreservação de grãos de pólen em Bromeliaceae, uma vez que tais métodos oferecem suporte estratégico para programas de conservação *ex situ* e de melhoramento genético. Ao possibilitar cruzamentos controlados e a formação de bancos de germoplasma eficientes, a criopreservação contribui para a manutenção da variabilidade genética e para a sustentabilidade de populações ameaçadas (Souza et al., 2018).

Além disso, o estudo dos sistemas reprodutivos em Bromeliaceae apresenta-se como um desafio devido à complexidade e diversidade de estratégias observadas na família, que inclui desde mecanismos de autoincompatibilidade e heterostilia até sistemas mistos que combinam reprodução sexuada e assexuada (Gilmartin; Brown, 1985; Benzing, 2000; Givnish et al., 2011; Souza et al., 2017; Cavalcante et al., 2020; Mota et al., 2023; Fagundes et al., 2024; Nascimento et al., 2025; Silva et al., 2025). A dependência de polinizadores específicos, somada à ocorrência frequente de espécies epífitas em dosséis de difícil acesso, limita a obtenção de dados consistentes em campo e contribui para lacunas significativas no conhecimento sobre o grupo (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023). Além disso, fatores antrópicos, como a fragmentação de habitats e o declínio de polinizadores, podem induzir alterações nos sistemas reprodutivos, dificultando a distinção entre padrões naturais e respostas adaptativas recentes (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023). Dessa forma, há insuficiência de informações sobre os sistemas reprodutivos de várias espécies de Bromeliaceae, particularmente de *Tillandsia*, o que prejudica a identificação de barreiras reprodutivas, padrões de compatibilidade e mecanismos que mantêm a variabilidade genética. Essa lacuna compromete estratégias de conservação e manejo populacional

Assim, compreender aspectos da biologia reprodutiva em Bromeliaceae é fundamental não apenas para o avanço do conhecimento sobre a evolução de sistemas reprodutivos em plantas tropicais, mas também para subsidiar estratégias de conservação e manejo, considerando que a família figura entre as mais ameaçadas do Brasil (Silva et al., 2025).

Além do exposto, investigar os sistemas reprodutivos de Bromeliaceae ajuda a elucidar como diferentes estratégias, como a evolução da autocompatibilidade, a especialização de polinizadores e a adoção da reprodução clonal, impulsionaram a radiação adaptativa do grupo em diversos ecossistemas, permitindo que as espécies colonizem uma ampla gama de habitats (Souza et al., 2017; Cavalcante et al., 2020; Mota et al., 2023). Esse conhecimento também é crucial para a conservação, identificando espécies ou populações

vulneráveis, apoiando a polinização controlada para a produção de sementes e restauração de habitats naturais (Mota et al., 2023) e orientando programas de manejo e melhoramento revelando mecanismos reprodutivos que promovem a variabilidade genética e aumentam a capacidade adaptativa em situações de mudanças ambientais (Souza et al., 2017, Silva et al., 2025). Assim faz-se necessário mais estudos que visem a conservação do germoplasma dessa família tão importante.

Este trabalho tem como objetivo aprofundar o conhecimento sobre a conservação de grãos de pólen e os sistemas reprodutivos de espécies de Bromeliaceae, buscando fornecer subsídios científicos que possam orientar ações de conservação e manejo dessas espécies. Acredita-se que, ao compreender melhor esses mecanismos, será possível desenvolver estratégias mais eficazes para proteger a biodiversidade, garantir a sustentabilidade das populações e promover a preservação do rico patrimônio genético dessas espécies. Assim, este estudo contribui não apenas para o avanço do conhecimento científico, mas também para a conservação prática e sustentável desse grupo de espécies de Bromeliaceae.

A tese está dividida em dois capítulos. O primeiro capítulo **“Criopreservação para estabelecimento de um criobanco de grãos de pólen de espécies ameaçadas de extinção de *Lymania* Read (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil”** estudou a criopreservação dos grãos de pólen para preservar alelos importantes dessas espécies que são microendêmicas e apresentam assincronia de florescimento. Esse trabalho teve o objetivo de definir a melhor condição de desidratação dos grãos de pólen; testar a viabilidade in vitro e em in vivo após períodos definidos de armazenamento em freezer a -5°C e criopreservação a -196°C em nitrogênio líquido; avaliar a produção de frutos e a germinação de sementes; aclimatizar plantas oriundas de polinizações cruzadas com grãos de pólen criopreservados e implementar um criobanco de grãos de pólen das espécies do gênero *Lymania* Read. endêmicas do Nordeste do Brasil.

O segundo capítulo **“Sistemas reprodutivos de espécies de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) ocorrentes no Estado da Bahia, Brasil”**, aborda estudos dos sistemas reprodutivos de 14 espécies do gênero *Tillandsia* L. O objetivo deste trabalho foi identificar os sistemas reprodutivos de espécies do gênero *Tillandsia* L.; avaliar as possíveis barreiras reprodutivas dessas espécies e avaliar a produção de frutos e germinação de sementes após cruzamentos controlados dessas espécies que ocorrem no Estado da Bahia, Brasil.

REVISÃO DE LITERATURA

A família Bromeliaceae

A família Bromeliaceae Juss. possui cerca de 3.835 espécies distribuídas em 84 gêneros (Gouda et al., 2025, atualização contínua) que ocorrem, predominantemente, nas regiões tropicais e subtropicais da América (Smith; Downs, 1974). A exceção é *Pitcairnia feliciana* (A. chev.) Harms & Mildbr. que ocorre na costa oeste da África, como consequência da dispersão a longa distância (Givnish, et al., 2007).

As primeiras representantes da família provavelmente eram plantas terrícolas, habitavam ambientes pobres em nutrientes e úmidos, realizavam fotossíntese C3 e surgiram no Escudo das Guianas há 70 milhões de anos (Givnish et al., 2007; Zizka et al., 2019). Ao invadirem áreas mais secas, há aproximadamente 15 milhões de anos, as primeiras adaptações ao epifitismo e fotossíntese CAM foram surgindo em resposta às alterações climáticas e geológicas (Givnish et al., 2007).

Bromeliaceae apresenta dois grandes centros de diversidade: o Escudo das Guianas e a costa leste do Brasil (Givnish et al., 2007). Para os domínios da Mata Atlântica são estimadas mais de 50% das espécies e 80% dos gêneros, sendo que 85% das espécies existentes são endêmicas (Forzza et al., 2013; Santos et al., 2022). Além disso, são bem representadas nas diferentes fitofisionomias dos domínios fitogeográficos da Caatinga, Cerrado, Pampa, Pantanal e Amazônia (Islair et al., 2015).

Bromeliaceae ocupa a posição basal da Ordem Poales (APG IV). Caracteres moleculares (presença de nDhF; Givnish et al., 2011), morfológicos (escamas peltadas absorventes; Benzing, 2000) e citogenéticos (número cromossômico básico $x = 25$; Brown; Gilmartin, 1989) sustentam seu monofiletismo.

A família apresenta-se dividida em oito subfamílias: (Bromelioideae, Brocchinioideae, Hechtioideae, Lindmanioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Tillandsioideae) com base nos caracteres morfológicos, filogenéticos e moleculares (Givnish et al., 2011).

Desde a publicação da monografia de Smith e Downs (1974, 1977, 1979) a classificação da família sofreu diversas modificações e vários estudos de caracterização têm sido realizados para revisão de gêneros, subgêneros e complexos de espécies. Tais estudos têm contribuído ao conhecimento da morfologia e taxonomia da família. Entretanto, existem

muitas lacunas de conhecimento para a compreensão dos relacionamentos infragênicos, como, por exemplo, nos gêneros *Tillandsia* L. e *Lymania* Read. (Costa; Gomes-da-Silva; Wanderley, 2014).

Caracterização Morfológica em Bromeliaceae

As plantas geralmente são herbáceas, exceto em algumas espécies andinas do gênero *Puya*, que apresentam hábito lenhoso e podem ultrapassar 10 metros de altura, como em *Puya raimondii* Harms. Entretanto, predominam na família plantas de pequeno e médio porte, com modo de vida epífita, rupícola, saxícola ou terrestre. *Tillandsia usneoides* (L.) L., por exemplo, vive como epífita e forma uma longa cortina, bastante característica nas formações florestais (Smith; Downs, 1974).

O caule pode ser aéreo (geralmente curto). A presença de rizomas horizontais ou estolões é comum em alguns gêneros e espécies, caracterizado pela formação de longas touceiras com projeções de suas rosetas (Wanderley; Martins, 2007).

As raízes podem ter função apenas de fixação ao substrato como em *Tillandsia* cuja absorção de água e nutrientes é realizada por tricomas absorventes, num mecanismo de osmose (Takahashi; Mercier, 2024). Também podem ser reduzidas e absorventes nas plantas terrestres ou até mesmo ausente (Smith; Downs, 1974; Wanderley; Marthins, 2007).

As folhas estão dispostas em espiral e de forma imbricada. O imbricamento da bainha foliar geralmente forma uma roseta, que pode variar em morfologia, sendo algumas vezes tubular e, em outras, aberta. A forma da roseta e o imbricamento da bainha, geralmente, formam um tanque que acumula água, minerais e detritos orgânicos (Smith; Downs, 1974; Wanderley; Marthins, 2007).

Ocorre também representantes com folhas dísticas, como no gênero *Tillandsia*, nestes casos sem formação de tanque. A bainha foliar pode ser pouco ou muito distante da lâmina foliar, geralmente aberta. A lâmina foliar pode ser lisa ou espinescente, característica importante no reconhecimento das subfamílias e gêneros (Smith; Downs, 1974; Wanderley; Marthins, 2007). A superfície da folha apresenta indumento formado pelas escamas peltadas. Em algumas espécies este indumento é bem marcante e de cor argêntea, especialmente em espécies do gênero *Tillandsia* e *Dyckia*. Essa coloração aumenta a reflectância da luz solar na superfície foliar minimizando a transpiração (Smith; Downs, 1974; Wanderley; Marthins, 2007).

As inflorescências são, geralmente, muito vistosas pela coloração de suas flores e das brácteas, podem ser simples ou compostas, terminais ou laterais, dispostas em racemo, panícula ou capítulo, raramente com flores isoladas como em *Tillandsia usneoides*. São sésseis, ou mais comumente podem ser sustentadas por um escapo, que pode ser parcial ou totalmente recoberto por brácteas, que juntamente com as flores coloridas atraem polinizadores (Smith; Downs, 1974; Wanderley; Marthins, 2007).

As flores são trímeras, bissexuadas ou muito raramente funcionalmente pistiladas ou estaminadas; actinomorfas a zigomorfas com perianto diferenciado em cálice e corola, dispostas nas axilas de brácteas, por vezes coloridas. Com sépalas livres ou conadas, simétricas a fortemente assimétricas. As pétalas podem ser livres ou conadas, podendo apresentar um par de apêndices membranáceos na face interna ou calosidades longitudinais (Smith; Downs, 1974; Wanderley; Marthins, 2007). Duas séries de três estames formam o androceu, filetes livres ou conados, por vezes, adnatos às pétalas.

Os estudos clássicos de Smith e Downs (1974; 1977; 1979) destacaram variações estruturais nos estigmas, especialmente quanto à forma e à disposição dos lóbulos estigmáticos, características que se mostraram consistentes entre os grupos e de grande relevância taxonômica. de modo geral observaram-se estigmas trífidos, com papilas receptoras dispostas de maneira distinta conforme a subfamília, o que reflete diferentes nas estratégias reprodutivas. Neste sentido, Smith e Downs (1974; 1977; 1979) reconheceram os principais tipos de estigma: simples-ereto, predominante em Pitcairnioideae; convoluto, comum em Bromelioideae e, conduplicado, característico em Tillandsioideae. Posteriormente Brown e Gilmartin (1984; 1988; 1989) ampliaram a classificação dos tipos estigmáticos, realizando uma análise sistemática detalhada de espécies representativas das subfamílias. Os autores supracitados identificaram cinco tipos de estigma em Bromeliaceae com base em microscopia óptica e eletrônica de varredura (simples-ereto, cupulado, lâmina-convoluta, conduplicado-espiral e coraliforme). De acordo com os autores as subfamílias Bromelioideae e Pitcairnioideae parecem ser homogêneas para o tipo conduplicado-espiral enquanto as Tillandsioideae apresentam todos os tipos. Mais recentemente Barfuss et al. (2016) combinaram dados morfológicos, anatômicos e moleculares em uma abordagem filogenética abrangente que identificou 18 tipos de estigma dentro da subfamília Tillandsioideae (subtipos de estigma previamente descritos) e introduziu um novo tipo de estigma em comparação com as classificações anteriores (tubo-laciniado).

O ovário pode ser súpero, ínfero, ou semi-ínfero, tricarpetal e trilobular, apresenta placentação axial e nectários septais (Smith; Downs, 1974; Wanderley; Marthins, 2007).

Os frutos podem ser secos, do tipo cápsula septicida, ou carnosos, como baga. Na espécie da subfamília Tillandsioideae as sementes são plumosas apresentando longos apêndices que facilitam a dispersão pelo vento (Zizika et al., 2019). Ocorrem também na família sementes aladas, adaptadas à dispersão anemocórica e sementes desprovidas de apêndices, que podem depender de outros mecanismos, como transporte por água ou animais (Smith; Downs, 1974; Wanderley; Marthins, 2007; Mota et al., 2023). Essa diversidade de tipos de frutos e sementes demonstra a plasticidade adaptativa da família, permitindo que as espécies ocupem uma ampla gama de ambientes neotropicais, desde florestas úmidas até campos rupestres e regiões semiáridas (Benzing, 2000).

Importância da família Bromeliaceae

As espécies de Bromeliaceae afetam muitos aspectos dos ecossistemas que habitam, contribuindo para sua diversidade e sustentabilidade, pois influenciam ciclos de nutrientes, mediam interações ecológicas e são importantes também para comunidades humanas (Cavalcante et al., 2020).

A disposição das folhas, de muitas espécies, em formato de roseta forma tanques que acumulam água, folhas secas, matéria orgânica e excreções de organismos residentes, isso permite a decomposição e liberação de nutrientes como fósforo, nitrogênio e potássio, servindo como pontos de captação e redistribuição de nutrientes (Martinelli, 1997; Benzing, 2000). Numerosas espécies de animais utilizam as plantas para reprodução, como é o caso dos anfíbios, além de usá-las para forrageamento e como refúgio contra predadores (Benzing, 2000). Algumas espécies de plantas como a *Anthurium bromelicola* Maior & Félix (Maior; Félix, 2000) germinam e se desenvolvem no tanque das bromélias, sendo importante para estabelecer outras espécies vegetais em ambientes de restinga (Benzing, 2000).

A importância ecológica das espécies de Bromeliaceae vai além do acúmulo de água e nutrientes em seu tanque. As flores, por meio do néctar produzido, servem de recursos alimentares para uma gama de polinizadores, dessa forma, durante a floração atraem diversos animais como beija-flores, morcegos, abelhas, mariposas, vespas, borboletas e formigas mutualistas e, suas flores também abrigam diversas espécies de ácaros (Martinelli, 1997; Cavalcante et al., 2020).

Variedades de *Ananas comosus* (L.) Merr., 1917 (abacaxizeiros), amplamente cultivados no Brasil, apresentam usos diversos além da alimentação humana e animal (Souza et al., 2017). As fibras extraídas de suas folhas têm despertado crescente interesse por seu potencial como reforço sustentável em diferentes setores industriais. Estudos recentes demonstraram que as fibras apresentam elevado teor de celulose, boa resistência mecânica e estabilidade térmica, o que possibilita a sua aplicação na indústria automotiva, em compósitos poliméricos e na construção civil (Sethupathi et al., 2024; Silva et al., 2025). Além disso, a extração de nanocelulose e nanofibrilas a partir dessas fibras amplia o leque de possibilidades em biocompósitos de alto desempenho (Barros et al., 2024). Outras aplicações incluem a utilização em materiais têxteis, após processos de cottonização que reduzem o teor de lignina e melhoram a uniformidade superficial (Queiroz et al., 2020), em geopolímeros para fins estruturais (Júnior et al., 2025) e em compósitos para absorção de impacto e proteção balística (Neves et al., 2022).

As espécies de plantas ornamentais sempre estiveram presentes ao longo da história da humanidade e o cultivo de espécies de Bromeliaceae como plantas ornamentais é secular (Souza et al., 2021). A floricultura é uma indústria multibilionária, moderna e tem passado por transformações significativas nos últimos anos, impulsionadas por avanços tecnológicos, mudanças no comportamento do consumidor e fatores ambientais (Medri et al., 2021).

As plantas são altamente valorizadas no mercado ornamental por suas cores, formas variadas, baixa exigência de manutenção e adaptabilidade a diferentes ambientes (Junqueira, 2008; Silva et al., 2023). Tais características as tornam desejadas tanto para uso doméstico quanto para paisagismo (Medri et al., 2021). O Instituto Brasileiro de Floricultura (Ibraflor) destaca o desempenho positivo do setor de flores e plantas ornamentais em 2024, que registrou crescimento próximo a 10% em relação ao ano anterior, movimentando cerca de R\$ 21,23 bilhões na economia nacional. Esse resultado reflete não apenas o aumento da demanda interna por produtos ornamentais, mas também a consolidação da cadeia produtiva, que envolve milhares de produtores distribuídos por diferentes regiões do país. A ampliação das exportações brasileiras de plantas ornamentais incluiu a autorização oficial para a exportação de espécies do gênero *Tillandsia* para a Colômbia. O anúncio foi realizado pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) e pelo Ministério das Relações Exteriores (MRE) em 21 de janeiro de 2025 (Brasil, 2025; Brasil, 20125). Esse avanço representa um marco relevante para o setor, pois fortalece a posição do Brasil no mercado internacional de ornamentais e amplia as oportunidades comerciais para a flora nativa. As *Tillandsia* possuem

elevado valor ornamental devido à diversidade morfológica, às formas exóticas e à adaptação a diferentes condições ambientais, características que as tornam altamente atrativas para consumidores internacionais (Souza et al., 2020). Contudo, o crescimento da demanda traz implicações ecológicas, econômicas e legais que precisam ser melhor compreendidas para garantir o uso sustentável desses recursos (Medri et al., 2021).

A diversidade, a distribuição geográfica e o estado de conservação das espécies evidenciam que muitas estão potencialmente ameaçadas (Zizka et al., 2019). Segundo a Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção (MMA, 2022), a família Bromeliaceae ocupa a segunda posição entre aquelas com maior número de espécies ameaçadas no Brasil, totalizando 247 táxons. Dentre essas, 66 espécies estão classificadas como Criticamente em Perigo (CR), 142 como Em Perigo (EN) e 39 como vulneráveis (VU), evidenciando o elevado risco de extinção que afeta o grupo. A perda dessas espécies pode ter efeitos em cascata: destruição de micro-habitats, redução da capacidade de retenção de água, declínio de espécies dependentes desses ecossistemas aquáticos e perda de interações mutualísticas importantes (Zizka et al., 2019; Andrade Junior et al., 2025; Silva et al., 2025).

Conservação de grãos de pólen em Bromeliaceae

A família Bromeliaceae apresenta numerosos gêneros e espécies endêmicas, muitos dos quais estão fortemente adaptados a micro-habitats específicos (Souza et al., 2017). Os grãos de pólen viáveis desempenham um papel essencial na reprodução sexuada das plantas, pois permite a transferência de material genético até o óvulo, possibilitando a fecundação, a consequente formação de sementes e a variabilidade genética (Souza et al., 2021). Em Bromeliaceae, a polinização natural é frequentemente conduzida por beija-flores, morcegos e insetos (Nascimento et al., 2025), mas a curta longevidade dos grãos de pólen fresco pode limitar o sucesso reprodutivo em ambientes fragmentados ou com escassez de polinizadores. Dessa forma, estratégias de conservação *ex situ* têm sido aplicadas para prolongar a viabilidade polínica para usos posteriores em cruzamentos controlados, mesmo em épocas fora da floração (Souza et al., 2018).

Estudos sobre a morfologia e viabilidade dos grãos de pólen em Bromeliaceae mostraram variabilidade significativa entre gêneros e espécies quanto ao tamanho, a ornamentação da exina, estrutura da exina (tectada, semitectada, heterobrochada, reticulada), número de colpos/ poros, o que afeta não apenas a taxonomia, mas também a resposta em

germinação *in vitro* e conservação (Parton et al., 2002; Souza et al., 2015; Souza et al., 2017; Souza et al., 2021; Mota et al., 2024; Silva et al., 2025).

A conservação de grãos de pólen é relevante, não apenas para preservar alelos importantes, mas também para ajudar a superar a floração assíncrona, tornando-a uma ferramenta significativa para cruzamentos controlados e melhoramento genético (Parton et al., 2002; Ferreira et al., 2024).

Dentre os métodos de conservação de grãos de pólen, a criopreservação permite a conservação a longo prazo de material genético requisitando pouco espaço. Isso pode ser alcançado por armazenamento em nitrogênio líquido (-196 °C) de partes da planta, como calos, pontas de caule, botões, sementes e grãos de pólen (Wang et al., 2020; Ferreira et al., 2024).

Os testes de viabilidade, na maioria dos estudos sobre conservação de grãos de pólen criopreservados de diferentes espécies, são limitados à germinação *in vitro* ou avaliações histoquímicas, entretanto, apenas a produção de sementes, em última análise, confirma a eficiência do processo (Souza et al., 2018). Para que a viabilidade polínica se mantenha durante o processo de criopreservação alguns fatores devem ser levados em consideração, tais como: estágio fisiológico da flor, temperatura de armazenamento e umidade relativa e teor de umidade dos grãos de pólen (Souza et al., 2017). Por isso, é relevante monitorar a viabilidade antes, durante e depois do armazenamento para obtenção de um protocolo eficiente. Assim, o foco consiste em estabelecer o máximo período durante o qual os grãos de pólen pode ser armazenado sem perder a fertilidade, constituindo uma ferramenta importante para o melhoramento genético e intercâmbio de germoplasma (Damasceno et al., 2008; Ferreira et al., 2024).

No contexto das Bromeliaceae, estudos de criopreservação de grãos de pólen têm buscado viabilizar a criação de criobancos voltados à conservação de alelos, especialmente de espécies ameaçadas ou vulneráveis, assegurando a preservação genética em longo prazo (Souza et al., 2018). A implementação desses criobancos em instituições de pesquisa ou em centros internacionais, como os vinculados ao CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research), representa uma estratégia essencial para a manutenção de recursos genéticos relevantes à segurança alimentar (FAO, 2009; Halewood et al., 2020; Yazbek; Abberton, 2021), além de contribuir diretamente para a preservação da biodiversidade vegetal, atualmente sob forte pressão das atividades humanas.

Nos últimos anos, a conservação de grãos de pólen tem se destacado como alternativa eficiente, devido à sua facilidade de armazenamento e à possibilidade de troca entre coleções, constituindo uma fonte estratégica de diversidade genética (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017; Ferreira et al., 2024). Estudos comparativos entre diferentes estratégias de conservação confirmam as vantagens da criopreservação (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017; Rajasekharan; Rohini, 2023; Ferreira et al., 2024; Liu et al., 2024). Com os avanços nas tecnologias de armazenamento e processamento, os criobancos de grãos de pólen consolidam-se como ferramentas valiosas para a sustentabilidade agrícola e a conservação da biodiversidade (Sorokhaibam et al., 2023; Anushma et al., 2024; Ferreira et al., 2024).

Apesar dos progressos na conservação de grãos de pólen de Bromeliaceae, ainda existem lacunas relacionadas à padronização de métodos para diferentes espécies e à avaliação da viabilidade em longos períodos de armazenamento. Estudos adicionais são necessários para consolidar protocolos acessíveis a programas de conservação em larga escala.

Sistemas reprodutivos em Bromeliaceae

Estudos sobre a biologia floral e reprodutiva de uma comunidade vegetal são fundamentais para compreender as interações planta-animal e os mecanismos relacionados ao sucesso reprodutivo, competição e partilha por polinizadores (Cavalcante et al., 2020). Esses estudos auxiliam na conservação de habitats naturais em fragmentação, de espécies endêmicas ou em risco de extinção, bem como podem subsidiar programas de melhoramento genético (Machado; Lopes, 2002; Cavalcante et al., 2020).

Bromeliaceae apresenta uma variedade de estratégias de polinização, com espécies ornitófilas, quiropterófilas, melitófilas e esfingófilas (Cavalcante et al., 2020). Além disso, também são diversos os sistemas reprodutivos podem ser autógamo, misto, alógamo ou cleistógamo, refletindo adaptações a diferentes condições ecológicas e pressões evolutivas (Gilmartin; Brown, 1985; Benzing, 2000; Givnish et al., 2011; Souza et al., 2017; Cavalcante et al., 2020; Mota et al., 2023; Fagundes et al., 2024; Nascimento et al., 2025; Silva et al., 2025).

A reprodução sexuada em Bromeliaceae ocorre após a polinização, que permite a formação de frutos e sementes, e apresenta uma grande diversidade de estratégias, tais como a polinização cruzada (alogamia), predominante na família e frequentemente mediada por polinizadores específicos (beija-flores, morcegos, mariposas e abelhas) (Souza et al., 2017;

Cavalcante et al., 2020; Silva et al., 2025). A alogamia é forçada por mecanismos como a autoincompatibilidade, um importante mecanismo reprodutivo presente na maioria das angiospermas para evitar a autofecundação, o que contribui para manter e aumentar a diversidade dentro das espécies e evitar a endogamia (Nascimento et al., 2025). No entanto, ela é uma das principais barreiras para programas de melhoramento genético, que buscam a obtenção de novas cultivares (Souza et al., 2017; Cavalcante et al., 2020; Nascimento et al., 2025). No sistema de autoincompatibilidade gametofítico, os tubos polínicos incompatíveis têm o seu crescimento cessado no estilete e a especificidade do grão de pólen é gerada pelo alelo-S do genoma haploide do gametófito, já na autoincompatibilidade esporofítica a inibição da germinação do grão de pólen ocorre na superfície do estigma e a especificidade dos grãos de pólen é determinada pelo genótipo diploide do esporófito (Souza et al., 2017; Cavalcante et al., 2020; Silva et al., 2025). Neste sentido, diversos estudos têm registrado a ocorrência de barreiras pré-zigóticas e pós-zigóticas em espécies de Bromeliaceae (Matallana et al., 2016; Souza et al., 2017; Mota et al., 2023; Fagundes et al., 2024). As barreiras pré-zigóticas manifestam-se principalmente pela incapacidade dos grãos de pólen em germinar no estigma ou pela interrupção do crescimento do tubo polínico ao longo do estilete (Vervaeke et al., 2002). Já as barreiras pós-zigóticas estão associadas a falhas no processo de fertilização ou ao aborto de embriões em diferentes estágios de desenvolvimento (Vervaeke et al., 2002).

Outro importante mecanismo que força a alogamia é a heterostilia que impede ou reduz a autofecundação devido a diferenças significativas nas posições entre estigma e anteras (Silva et al., 2025).

A autofecundação (autocompatibilidade) pode representar uma importante vantagem em ambientes com baixa densidade populacional ou escassez de polinizadores (Nascimento et al., 2025; Silva et al., 2025).

Diversas espécies de Bromeliaceae exibem combinações de alogamia e autocompatibilidade parcial (sistema misto). Nesses casos, a taxa de cruzamento depende da disponibilidade de polinizadores e da densidade populacional. Essa flexibilidade pode aumentar a resiliência populacional em ambientes instáveis (Cavalcante et al., 2020; Mota et al., 2023; Fagundes et al., 2024; Nascimento et al., 2025; Silva et al., 2025).

A reprodução assexuada na família Bromeliaceae é realizada principalmente por brotamento vegetativo, no qual novas plantas emergem na base da roseta após a floração da planta-mãe (Benzing, 2000; Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023; Nascimento et al.,

2025). Além disso, também acontece a reprodução por meio de estolões, estruturas horizontais que se desenvolvem a partir da planta-mãe e dão origem a novos indivíduos geneticamente idênticos (Nascimento et al., 2025). Esse sistema garante a manutenção da população mesmo na ausência de polinizadores. Entretanto, por não gerar variabilidade genética, a reprodução assexuada pode limitar a capacidade adaptativa das espécies a longo prazo (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023).

A coexistência de diferentes sistemas reprodutivos dentro da família confere às espécies uma elevada plasticidade adaptativa, enquanto a reprodução sexuada garante diversidade genética, fluxo gênico e potencial evolutivo, enquanto a reprodução assexuada assegura resiliência ecológica e colonização eficiente em curto prazo (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023). Essa complementaridade explica o sucesso da família em ambientes heterogêneos, incluindo ecossistemas ameaçados, como a Mata Atlântica.

REFERÊNCIAS

- Andrade Junior, R. A. C.; Pelacani, C. R.; Fernandez, E. P.; Bicalho, M. B.; Aona, L. Y. S.; Souza, F. V. D.; Leme, E. M. C.; Souza, E. H. From field data to policy action: Assessing the distribution and conservation of *Quesnelia* (Bromelioideae: Bromeliaceae), an endemic genus of the Atlantic Forest hotspot. **Journal for Nature Conservation**, v. 86, p. 126940, 2025.
- Anushma, P. L.; Rajasekharan, P. E.; Singh, T. H. Pollen cryobanking in wild solanums for conservation and utilization of nuclear genetic diversity. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 71, n. 10, p. 2687-2697, 2024.
- APG - Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.
- Barfuss, M. H. J.; Till, W.; Leme, E. M. C.; Pinzón, J. P.; Manzanares, J. M.; Halbritter, H.; Samuel, R.; Brown, J. K. Taxonomic revision of Bromeliaceae subfam. Tillandsioideae based on a multi-locus DNA sequence phylogeny and morphology. **Phytotaxa**, v. 279, n. 1, p.1-97, 2016.
- Barros, B. R. S.; Dal'Ava Augusto, D.; De Medeiros Neto, J. F.; Michener, L. A.; Silva, R. S.; Sousa, C. d. O. Isometric versus isotonic exercise in individuals with rotator cuff tendinopathy—Effects on shoulder pain, functioning, muscle strength, and electromyographic activity: A protocol for randomized clinical trial. **Plos One**, v. 19, n. 3, p. e0300483, 2024
- Benzing, D. H. **Bromeliaceae**: profile of an adaptive radiation. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. p 690.
- Brasil. Ministério da Agricultura e Pecuária; Ministério das Relações Exteriores. **Abertura de mercado na Colômbia. Brasília**, 21 jan. 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/abertura-de-mercado-na-colombia>. Acesso em: 04 de mar. 2025.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente. **Portaria MMA n. 148, de 7 de junho de 2022**. ICMBIO. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf. Acesso em: 3 set. 2024.
- Brown, G. K.; Gilmartin, A. J. Cleistogamy in *Tillandsia capillaris* (Bromeliaceae). **Biotropica**, v. 16, n. 4, p. 256–259, 1984.
- Brown, G. K.; Gilmartin, A. J. Stigma types in Bromeliaceae. A systematic survey. **Systematic Botany**, v. 14, n. 1, p. 110-132, 1989.
- Brown, G. K.; Gilmartin, A. J. Stigma types in Bromeliaceae: a systematic survey. **Systematic Botany**, v. 13, n. 1, p. 110–132, 1988.

Cascante-Marín, A.; Núñez-Hidalgo, S. A. Review of breeding systems in the Pineapple family (Bromeliaceae, Poales). **Botanical Review**, v. 89, n. 3, p. 308–329, 2023.

Cavalcante, B. P.; Souza, E. H.; Williams, J. H.; Versieux, L. M. Reproductive systems and post-pollination barriers between two closely related eu-bromelioids (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest of Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 192, n. 4, p. 828-839, 2020.

Costa, A. F.; Gomes-da-Silva, J.; Wanderley, M. G. L. *Vrisea* (Bromelaiceae, Tillandsioideae): Taxonomic history, and morphology of the Brazilian lineage. **Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 141, n. 4, p. 338-352, 2014.

Damasceno Junior, P. C.; Pereira, T. N. S.; Pereira, M. G.; Silva, F. F. Conservation of papaya (*Carica papaya* L.) pollen grain. **Ceres**, v. 55, n. 5, p. 433–438, 2008.

Fagundes, A.; Souza, E. H.; Funch, L. S.; Machado, I. C.; Alves, D. E.; Siqueira-Filho, J. Autogamy ensures reproductive success in the bromeliad *Dyckia dissitiflora* Schult.f., endemic to the Brazilian caatinga domain. **Plant Species Biology**, v. 7, n. 2, p. 135-152, 2024.

Fao (Food and Agriculture Organization) **A Global Treaty for Food Security and Sustainable Agriculture. International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture**. Rome: FAO, 2009.

Ferreira, M. S.; Costa, E. M. R.; Cruz, C. R. P.; Jesus, O. N.; Souza, F. D. V. Strategy for establishing a pollen cryobank of wild species of *Passiflora* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 71, n. 4, p. 1579–1591, 2024.

Forzza, R. C.; Costa, A. F.; Leme, E. M. C.; Versieux, L. M.; Wanderley, M. G. L.; Louzada, R. B.; Monteiro, R. F.; Judice, D. M.; Fernandez, E. P.; Borges, R. A. X.; Penedo, T. S. A.; Monteiro, N. P.; Moraes, M. A. Bromeliaceae. In: Martinelli, G.; Moraes, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson & Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. p 315-397.

Gilmartin, A. J.; Brown, G. K. Cleistogamy in *Tillandsia capillaris* (Bromeliaceae). **Biotropica**, v. 17, n. 3, p. 256-259, 1985.

Givnish, T. J.; Barfuss, M. H. J.; Rina, R.; Schulte, K.; Horres, R.; Gonsiska, P. A.; Jabaily, R. S.; Crayn, D. M.; Simth, J. A. C.; Winter, K.; Wanderley, M. G. L.; Martins, S. E., Coords. Bromeliaceae. In: Wanderley, M. G. L., Shepherd, G. J.; Melhem, T. S., Giulietti, A. M., (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. v. 5. São Paulo: Instituto de Botânica. 2007, p 39-161.

Givnish, T. K.; Millam, K. C.; Berry, P. E.; Sytsma, K. J. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhf* sequence data. **Aliso**, v. 23, n. 1, p. 3-26, 2011.

Gouda E.J., Butcher D., Gouda C.S. **Encyclopaedia of bromeliads**, version 4. utrecht university botanic gardens. (cont. updated). Disponível em: <http://bromeliad.nl/encyclopaedia/>. Acesso: 27 de jun. 2025.

Halewood, M.; Jamora, N.; Lopez Noriega, I.; Anglin, N. L.; Wenzl, P.; Payne, T.; Ndjioudjop, M. N.; Guarino, L.; Kumar, P. L.; Yazbek, M.; Muchugi, A.; Azevedo, V.; Tchamba, M.; Jones, C. S.; Venuprasad, R.; Roux, N.; Rojas, E.; Lusty, C. Germplasm acquisition and distribution by CGIAR genebanks. **Plants**, v. 9, p. 1296, 2020.

Harvey, A. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. **Drug Discovery Today**, v. 5, n. 7, p. 294-300, 2000.

Instituto Brasileiro de Floricultura – IBRAFLOR. **Setor de flores e plantas ornamentais cresce quase 10 % e movimentou R\$ 21,23 bilhões em 2024**. 2024. Disponível em: https://diarioic.totem.app.br/Noticias/868324/venda_de_flores_no_brasil_cresceu_quase_10_em_um_ano. Acesso em: 01 set. 2025.

Islair, P.; Carvalho, K. S.; Ferreira, F. C.; Zina, J. Bromeliads in caatinga: an oasis for invertebrates. **Biotemas**, v. 28, n. 1, p. 67-77, 2015.

Junqueira, A. H. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 14, n. 1, p. 1-10, 2008.

Leme, E. M. C.; Siqueira-Filho, J. A. Taxonomia das bromélias dos fragmentos de Mata Atlântica de Pernambuco e Alagoas. Fragmentos de Mata Atlântica do nordeste, biodiversidade, conservação e suas bromélias. Rio de Janeiro. **Andrea Jakobsson Estúdio**, 2006. p 190-381.

Liu, S.; Zhu, M.; Ma, W.; Wan, Y.; Liu, Y. **Effects of calcium ions and cell wall deposition on the pollen viability of *Paeonia lactiflora* after cryopreservation**. *Planta*, p. 260:96, 2024.

Machado, I. C. S.; Lopes, A. V. A polinização em ecossistema de Pernambuco: uma revisão do estado atual do conhecimento. In: Tabarelli, M.; Silva, J. M. C. (Ed). **Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco**. Secretaria de Ciência e Tecnologia e Meio Ambiente, Fundação Joaquim Nabuco; Editora Massangana, 2002. p 583-596.

Manetti, L. M.; Delaporte, R. H.; Laverde Junior, A. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, v. 32, n.7, p.1885-1897, 2009.

Marques, G.; Gutiérrez, A.; Del Rio, J. C. Chemical Characterization of Lignin and Lipophilic Fractions from Leaf Fibers of Curaua (*Ananas erectifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 1327-1336, 2007.

Martinelli, G. Biologia reprodutiva de Bromeliaceae na reserva ecológica de Macaé de Cima. In: Lima, H. C.; Guedes-Bruni, R. R. (Ed). **Serra de Macaé de Cima: Diversidade florística e conservação em Mata Atlântica: Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 1997. p 213-250.

Matallana, G.; Oliveira, P. E.; Silva, P. R. R.; Wendt, T. Post-pollination barriers in an assemblage of Bromeliaceae in south-eastern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 3, p. 521-531, 2016.

Mayo, S. J.; Félix, L. P. *Anthurium bromelicola* – a remarkable new species from Northeast Brazil. **Aroideana**, v. 23, n. 2, p. 89–99, 2000.

Medri, C.; Tartari, L. G.; Silva, J. M. *Aechmea distichantha* Lem. (Bromeliaceae): durabilidade pós-colheita e potencial como flor de corte ornamental. **Revista Ceres**, v. 68, n. 6, p. 609-616, 2021.

Mota, S. S.; Faro, I. A. M.; Soares, T. L.; Almeida, P. S.; Souza, F. V. D.; Aona, L. Y. S.; Costa, M. A. P. C.; Rossi, M. L.; Souza, E. H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 328, p. 112890, 2024.

Mota, S. S.; Faro, I. A. M.; Soares, T. L.; Almeida, P. S.; Souza, F. V. D.; Aona, L. Y. S.; Costa, M. A. P. C.; Rossi, M. L.; Souza, E. H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 328, p. 112890, 2024.

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

Neves, R. P.; Vechin, F. C.; Teixeira, E. L.; Da Silva, D. D.; Ugrinowitsch, C.; Roschel, H.; Aihara, A. Y.; Tricoli, V. Effect of different training frequencies on maximal strength performance and muscle hypertrophy in trained individuals—a within-subject design. **Plos One**, v. 17, n. 10, p. e0276154, 2022.

Parton, E.; Vervaeke, I.; Delen, R.; Vandenbussche, B.; Deroose, R. D. E.; Proft, M. P. Viability and storage of bromeliad pollen. **Euphytica**, v. 125, n. 2, p. 155–161, 2002.

Queiroz, M. M.; Ivanov, D.; Dolgui, A.; Fosso Wamba, S. Blockchain adoption in operations and supply chain management: Empirical evidence from an emerging economy. **International Journal of Production Economics**, v. 229, p. 107776, 2020.

Rajasekharan, P. E, Ravi, H. Viability and fertility of cryopreserved pollen of Brinjal and its wild relatives. **Journal of Plant Sciences**, v. 70, n. 3, p. 233-243, 2023.

Sethupathi, M.; Khumalo, M. V.; Skosana, S. J.; Muniyasamy, S. Recent developments of pineapple leaf fiber (PALF) utilization in polymer composites: A review. **Polymer Composites**, v. 45, n. 1, p. 1–14, 2024.

Silva, J. M.; Costa, A. L.; Pereira, M. R. S.; Souza, F. V. Plantas ornamentais: conceitos básicos de cultivo. 2. ed. São Paulo: **Editora Universitária**, 2023.

Silva, P. S.; Butenko, Y.; Kra, G.; Malitsky, S.; Itkin, M.; Levin, Y.; Moallem, U.; Zachut, M. Omega-3 fatty acids supplementation from late pregnancy to early lactation attenuates the endocannabinoid system and immune proteome in preovulatory follicles and endometrium of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 108, n. 5, p. 1–14, 2025.

Silva, R. L.; Souza, E. H.; Vieira, L. J.; Cruz, C. R. P.; Souza, F. V. D. Cryopreservation of pollen of wild pineapple accessions. **Scientia Horticulturae**, v. 219, p. 326–334, 2017.

Silva, T. A.; Cavalcante, B. P.; Fagundes, A. C. A.; Nascimento, G. Q. S.; Aona, L. Y. S.; Souza, F. V. D.; Costa, M. A. P. C.; Souza, E. H. Reproductive systems of *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. (Bromelioideae: Bromeliaceae) endemic to the Atlantic forest. **Journal Name**, v. 12, n. 9, p. 1-XX, 2025.

Smith, L. B.; Downs, R. J. Bromelioideae (Bromeliaceae. Part 3). **Flora Neotropica Monograph**, v. 14, n. 3, p.1493-2141, 1979.

Smith, L. B.; Downs, R.J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph**, v. 14, n.1, p.1-658, 1974.

Smith, L. B.; Downs, R.J. Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica**, v. 14, n. 2, p. 663-1492, 1977.

Sorokhaibam, S.; Tandon, R.; Agrawal, A.; Shivanna, K. R. Quantitative assessment of oil palm pollen after 23 years of cryobanking. **Cryoletters**, v. 44, n. 1, p. 20-25, 2023.

Souza, E. H.; Carvalho, A. J. A.; Gama, E. V. S.; Hora Neto, A. R.; Aona, L. Y. S. Macambiras, the most northeastern of the xerophiles: taxonomy, distribution and potential. **Revista Macambira**, v. 5, n. 1, e051005, 2021.

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

Souza, E. H.; Versieux, L. M.; Souza, F. V. D.; Rossi, M. L.; Costa, M. A. P. D. C.; Martinelli, A. P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. **Scientia Horticulturae**, v. 223, p. 53–61, 2017.

Souza, F. V. D.; Souza, E. H.; Silva, R. L. Cryopreservation of pollen grains of pineapple and other bromeliads. In: Loyola-Vargas, V.; Ochoa-Alejo, N. (eds.) *Plant Cell Culture Protocols. Methods in Molecular Biology*. **Humana Press**, p. 279-288, 2018.

Souza, S. O.; Oliveira, R. S.; Aona, L. Y. S.; Souza, F. V. D.; Soares, T. L.; Rossi, M. L.; Souza, E. H. Pollen morphology and viability of *Tillandsia* (Bromeliaceae) species by light microscopy and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 84, n. 5, p. 441–459, 2021.

Souza, S. O.; Oliveira, R. S.; Souza, F. V. D.; Aona, L. Y. L.; Rossi, M. L.; Souza, E. H. Morphoanatomy and stigma receptivity in *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) occurring in Bahia. **Nordic Journal of Botany**, v. 38, n. 1, p. 1-10, 2020.

Takahashi, C. A.; Mercier, H. New insights into the role of the root system of epiphytic bromeliads: comparison of root and leaf trichome functions in acquisition of water and nutrients. **Annals of Botany**, v. 134, n. 5, p. 679–688, 2024.

Vervaeke, I.; Parton, E.; Deroose, R.; de Proft, M. P. Controlling prefertilization barriers by in vitro pollination and fertilization of Bromeliaceae. **Acta Horticulturae**, v. 572, p. 21-28, 2002.

Wanderley, M. G. L.; Martins, S. E. Bromeliaceae. In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.S. & Giulietti, A.M. (eds.). **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2007. p 39-161.

Wang, M.; Lambardi, M.; Engelmann, F.; Pathirana, R.; Panis, B.; Volk, G. M.; Wang, Q. C. Advances in cryopreservation of in vitro-derived propagules: technologies and explant sources. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.144, n. 1, p. 7-20, 2020.

Yazbek, M.; Abberton, M. **Proposal for the conservation and use of Genetic Resources (Genebanks) initiative. CGIAR Initiative Proposal: Conservation and Use of Genetic Resources (Genebanks)**, 2021. Disponível em: <https://cgspace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/1e446d97-8be5-486f-8304-0487f6625ae5/content> Acesso: 12 de Jun. 2024.

Zah, R.; Hischier, R.; Leão, A. L.; Braun, I. Curauá fibers in the automobile industry – a sustainability assessment. **Journal of Cleaner Production**, v. 15, n. 10, p. 1032-1040, 2007.

Zizka, A.; Azevedo, J. A.; Leme, E.; Neves, B.; Ferreira da Costa, A.; Cáceres, D.; Zizka, G. Biogeography and conservation status of the pineapple family (*Bromeliaceae*). **Diversity and Distributions**, v. 26, n. 6, p. 183-195, 2019.

CAPÍTULO 1

Criopreservação para estabelecimento de um criobanco de grãos de pólen de espécies de *Lymania* Read (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção

Criopreservação para estabelecimento de um criobanco de grãos de pólen de espécies de *Lymania* Read (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção

Resumo: Este estudo avaliou a viabilidade de grãos de pólen armazenados em freezer (-5 °C) e criopreservados (-196 °C) de oito espécies de *Lymania* para o estabelecimento de um criobanco. Antes do armazenamento, as anteras foram desidratadas em sílica gel por 1, 3 e 6 h. A viabilidade foi avaliada *in vitro* após 24 h, 30, 180 e 365 dias de armazenamento, e as polinizações *in vivo* foram realizadas após 24 h e 365 dias. Frutos e sementes foram contados e colocados para germinar *in vitro*. O criobanco foi estabelecido com base no melhor tratamento de conservação. O teor de água dos grãos de pólen variou de 79,82% a 86,44% após 1 hora, de 30,17% a 39,75% após 3 h e de 11,22% a 12,56% após 6 horas de exposição. Os grãos de pólen permaneceram viáveis após 365 dias de armazenamento em nitrogênio líquido, com viabilidade acima de 89,5% e comprimento do tubo polínico superior a 0,97 mm. Em contraste, o armazenamento em freezer foi ineficaz: após 24 h, a viabilidade caiu para menos de 16,8%, e o comprimento do tubo polínico ficou abaixo de 0,13 mm, sem grãos viáveis remanescentes após 30 dias. As polinizações *in vivo* resultaram em produção de frutos acima de 75% e número variável de sementes. A germinação iniciou-se no 4º dia para *L. languida* e estabilizou-se em torno de 15 dias para todas as espécies. As plantas regeneradas apresentaram taxa de sobrevivência acima de 89% após 90 dias de aclimatização. Um criobanco foi estabelecido para a conservação de alelos a longo prazo, oferecendo contribuições significativas para programas de melhoramento genético e conservação do gênero *Lymania*, além de auxiliar na superação da floração assíncrona dessas espécies.

Palavras-chave: Bromélia, assincronia da floração, polinização *in vivo*, viabilidade polínica.

Cryopreservation for the establishment of a cryobank of pollen grains from *Lymania* Read (Bromeliaceae) species endemic to Northeast Brazil and threatened with extinction

ABSTRACT: This study evaluated the viability of pollen grains stored in a freezer (-5 °C) and cryopreserved (-196 °C) from eight *Lymania* species for the establishment of a cryobank. Before storage, anthers were dehydrated in silica gel for 1, 3, and 6 h. Viability was evaluated *in vitro* after 24 h, 30, 180, and 365 days of storage, and *in vivo* pollinations were performed after 24 h and 365 days. Fruits and seeds were counted and placed to germinate *in vitro*. The cryobank was established based on the best conservation treatment. The water content of the pollen grains ranged from 79.82% to 86.44% after 1 hour, from 30.17% to 39.75% after 3 hours, and from 11.22% to 12.56% after 6 hours of exposure. Pollen grains remained viable after 365 days of storage in liquid nitrogen, with viability above 89.5% and pollen tube length greater than 0.97 mm. In contrast, freezer storage was ineffective: after 24 hours, viability dropped to less than 16.8%, and pollen tube length was below 0.13 mm, with no viable grains remaining after 30 days. *In vivo* pollinations resulted in fruit production above 75% and a variable number of seeds. Germination began on the 4th day for *L. languida* and stabilized around 15 days for all species. Regenerated plants showed a survival rate above 89% after 90 days of acclimatization. A cryobank was established for the long-term conservation of alleles, offering significant contributions to genetic improvement and conservation programs of the genus *Lymania*, as well as helping to overcome the asynchronous flowering of these species.

Keywords: Bromeliad, flowering asynchrony, *in vivo* pollination, pollen viability.

INTRODUÇÃO

O gênero *Lymania* Read (Bromelioideae: Bromeliaceae) inclui espécies com ovários ínferos, sulcados ou alados, que anteriormente eram classificadas no gênero *Aechmea* Ruiz & Pav., dentro dos subgêneros *Lamprococcus* (Beer) Baker, *Araeococcus* Brongniart e *Ronnbergia* Morren e André (Sousa; Wendt, 2008). Atualmente, *Lymania* compreende dez espécies, todas endêmicas da região Nordeste do Brasil, especificamente do fragmento de Mata Atlântica no sul da Bahia, com exceção de *L. smithii* Read, também encontrada nos estados de Pernambuco e Alagoas (Sousa; Wendt, 2008; Souza et al., 2021; Mota et al., 2024).

As áreas remanescentes da Mata Atlântica estão entre as oito áreas prioritárias globais para conservação (Myers et al., 2000; Marques; Grelle, 2021) e, devido aos seus altos níveis de endemismo, são reconhecidas como um dos mais importantes centros de biodiversidade. O bioma foi severamente desmatado, e estima-se atualmente que restam apenas 29% de sua área original (MMA do Brasil, 2024). Além do desmatamento, a extração predatória, juntamente com a expansão urbana e agrícola, tem contribuído para a destruição desse bioma crucial para a fauna e a flora, incluindo a família Bromeliaceae, que contém espécies altamente diversas, muitas das quais estão ameaçadas de extinção (Souza et al., 2021; Forzza et al., 2023).

Como epífitas, as espécies de *Lymania* são particularmente afetadas pela degradação da Mata Atlântica causada por atividades humanas (Siqueira Filho; Machado, 2001; Mota et al., 2023; 2024). Nesse contexto, a Portaria 148 de 7 de julho de 2022 do Ministério do Meio Ambiente lista espécies ameaçadas no Brasil, incluindo 60% das espécies de *Lymania*. Entre elas, *L. alvimii* (L.B.Sm. & Read) Read, *L. azurea* Leme, *L. brachycaulis* (E.Morren ex Baker) L. F. Sousa e *L. corallina* (Brong. ex Beer) Read são classificadas como ‘Em Perigo’, enquanto *L. globosa* Leme e *L. spiculata* Leme & Forzza são classificadas como ‘Criticamente Em Perigo’ (MMA Brasil, 2022). Além disso, *L. involucrata* Leme & E. H. Souza também é considerada ‘Criticamente Ameaçada’ (Souza et al., 2021).

Diante dessa realidade, somada aos desafios de implementar a conservação *in situ*, a conservação *ex situ* é uma estratégia vital para preservar a variabilidade genética de espécies com alto potencial econômico e/ou ecológico ou que estejam em risco de extinção, como é o caso de muitas espécies da família Bromeliaceae. Dentre as diferentes abordagens, destacam-se os métodos biotecnológicos, em especial a conservação *in vitro* de médio prazo e a criopreservação, que se destacam na preservação do material genético por longos

períodos (Souza et al., 2015; 2016; 2018). A criopreservação é particularmente útil para espécies propagadas vegetativamente ou com sementes recalcitrantes, bem como para a conservação de populações pequenas e fragmentadas, com menor probabilidade de cruzamento natural (Santos, 2000).

A criopreservação permite a conservação de germoplasma com espaço físico mínimo e baixos custos de manutenção, uma vez que o material é armazenado em nitrogênio líquido (-196 °C) (Reed, 2008; Souza et al., 2015; 2018; Nagel et al., 2024). A técnica pode ser aplicada a diversos tecidos ou estruturas vegetais, como calos, ápices caulinares, eixos embrionários, gemas dormentes, grãos de pólen e outros (Reed, 2008; Nagel et al., 2024). A escolha do propágulo a ser criopreservado depende se os genes ou a combinação genética específica são os alvos do programa de conservação e se protocolos de criopreservação *in vitro* estão disponíveis (Bettoni et al., 2021; Zhang et al., 2023). A conservação do pólen é uma ferramenta importante tanto para o melhoramento genético, devido à assincronia da floração, quanto como alternativa complementar à conservação do germoplasma, pois preserva alelos relevantes e permite o armazenamento a longo prazo de grãos de pólen viáveis (Parton et al., 2002; Souza et al., 2018; Ferreira et al., 2024).

A eficácia da criopreservação depende da tolerância dos tecidos vegetais à desidratação, pois a formação de cristais de gelo durante o armazenamento em temperaturas ultrabaixas pode danificar as estruturas celulares (Souza et al., 2015; 2018). Portanto, o baixo teor de água dos grãos de pólen (aproximadamente 30%) é crítico para sua sobrevivência e viabilidade, e deve ser ajustado cuidadosamente para não comprometer o processo (Ganeshan et al., 2008; Souza et al., 2015; 2018; Silva et al., 2017). Para garantir a viabilidade do pólen durante a criopreservação, fatores como o estágio fisiológico da flor, a temperatura de armazenamento e o teor de umidade do pólen devem ser considerados (Souza et al., 2015; Ferreira et al., 2024). Assim, é essencial monitorar a viabilidade do pólen antes, durante e após o armazenamento (Souza et al., 2015; 2018; Silva et al., 2017). Isso pode ser feito por meio de diversas técnicas, incluindo testes histoquímicos, germinação *in vitro* e fertilização *in vivo*, visto que a produção de sementes confirma, em última análise, a eficácia do processo de armazenamento de pólen (Souza et al., 2015; 2018; Silva et al., 2017). Consequentemente, a criopreservação de pólen apresenta grande potencial para a conservação de recursos genéticos, produção haploide e estudos bioquímicos e fisiológicos (Grout; Roberts 1995; Souza et al., 2015).

Estudos de criopreservação de pólen envolvendo espécies de Bromeliaceae visam estabelecer criobancos para garantir a conservação de alelos, particularmente para espécies ameaçadas ou vulneráveis, em sistemas seguros e de longo prazo. O estabelecimento de criobancos em instituições de pesquisa em todo o mundo ou em centros internacionais como o CGIAR (Grupo Consultivo para Pesquisa Agrícola Internacional) visa preservar recursos genéticos importantes para garantir a segurança alimentar (FAO, 2009; Halewood et al., 2020; Yazbek; Abberton, 2021). Igualmente importante é a preservação da biodiversidade vegetal, que tem sido severamente ameaçada por diversas ações humanas.

A conservação de pólen tem sido amplamente utilizada nos últimos anos, especialmente como uma fonte valiosa de diversos alelos dentro de um pool genético, bem como por sua facilidade de armazenamento e troca (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017, Ferreira et al., 2024). Diversos estudos comparando diferentes estratégias de conservação de pólen indicaram as vantagens do uso da criopreservação (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017, Rajasekharan; Rohini, 2023; Ferreira et al., 2024; Liu et al., 2024). Com os avanços nas tecnologias de armazenamento e processamento, o uso de criobancos de pólen está se tornando uma ferramenta valiosa para a sustentabilidade agrícola e a proteção da biodiversidade (Sorokhaibam et al., 2023; Anushma et al., 2024; Ferreira et al., 2024).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade e a funcionalidade de grãos de pólen armazenados em freezer (-5 °C) e criopreservados em nitrogênio líquido (NL, -196 °C) de oito espécies de *Lymania* endêmicas do Nordeste do Brasil, muitas das quais ameaçadas de extinção. Além disso, foi estabelecido um criobanco para conservação a longo prazo. Essa estratégia visa complementar a conservação dessas espécies e facilitar polinizações controladas em casos de floração assíncrona.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material Vegetal

Foram avaliadas oito espécies do gênero *Lymania* Read, endêmicas do Nordeste do Brasil. Essas espécies são restritas ao bioma Mata Atlântica (Tabela 1). As análises foram conduzidas no Banco de Germoplasma de Bromélias (BGB Bromélias), parte do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPG RGV), estabelecido conjuntamente pela Embrapa Mandioca e Fruticultura e pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), localizado no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. A pesquisa foi conduzida em conformidade com a legislação brasileira sob a autorização SISBIO nº 69.870-1, e as atividades estão devidamente registradas no SisGen sob a autorização A9E9F8D.

Tabela 1. Espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil e ameaçadas de extinção, seu local de coleta, endemismo, status de ameaça e época de floração.

* Herbário do Recôncavo da Bahia. **IUCN, 2023, Forzza et al. (2013); Souza et al. (2021).

Espécie	Município de coleta	HURB*	Endemismo	Status de ameaça**	Época florescimento
<i>L. azurea</i> Leme	Una	18.873	Sul da Bahia	EN	Nov/ Dez
<i>L. brachycaulis</i> (E. Morren ex Baker)	Camamu	25.954	Sul da Bahia	EN	Jul/Ago
L.F.Souza					
<i>L. corallina</i> (Brongn. ex Beer) Read	Ilhéus, Itacaré, Uruçuca,	23.965 27.852 25.953	Sul da Bahia	EN	Ago/Set
<i>L. globosa</i> Leme	Igrapiúna, Ilhéus, Ituberá, Uruçuca	25.392 30.427 30.457 27.803	Sul da Bahia	EN	Out-Dez
<i>L. involucrata</i> Leme & E.H.Souza	Igrapiúna	25.815	Sul da Bahia	CR	Ago/ Set
<i>L. languida</i> Leme	Uruçuca	27.855	Sul da Bahia	NE	Set/ Out
<i>L. smithii</i> Read	Igrapiúna, Una, Uruçuca	30.435 30.416 18.872	Nordeste	NE	Nov-Fev
<i>L. spiculata</i> Leme & Forzza	Jussari	30.618	Sul da Bahia	CR	Nov/ Dez

EN = 'Em perigo'; CR = 'Criticamente em perigo'; NE = Não avaliado.

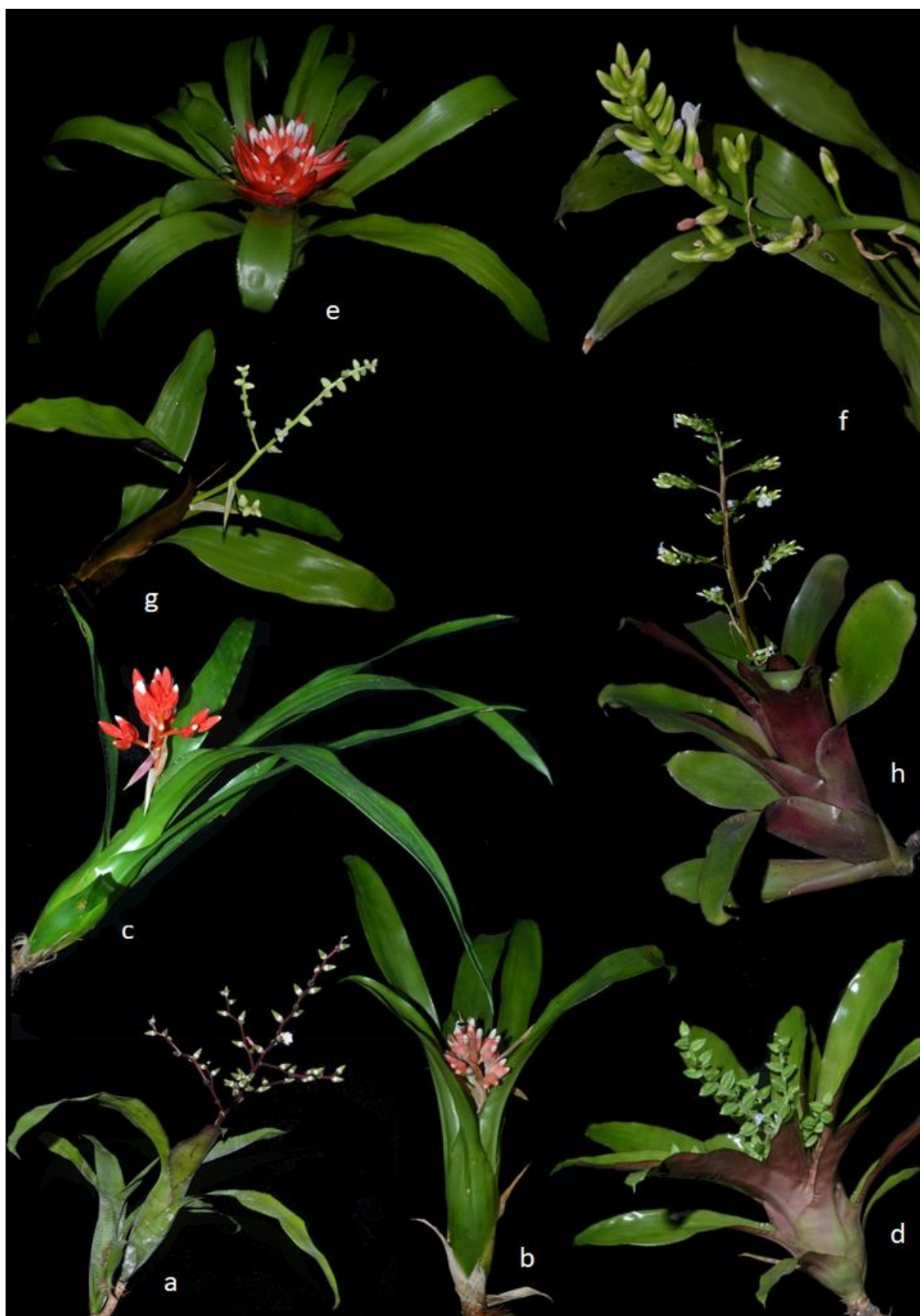


Figura 1. Espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil a) *L. azurea* Leme; b) *L. brachycaulis* (E. Morren ex Baker) L.F.Sousa; c) *L. corallina* (Brongn.

ex Beer) Read; d) *L. globosa* Leme; e) *L. involucrata* Leme & E.H.Souza; f) *L. languida* Leme; g) *L. smithii* Read; h) *L. spiculata* Leme & Forzza.

Desidratação dos grãos de pólen

Flores em antese foram coletadas e imediatamente enviadas ao laboratório, onde as anteras com grãos de pólen foram removidas com pinças e avaliadas para estudos de desidratação e criopreservação. Sílica gel ativada (Vetec®, malha de 4-8 mm) foi utilizada para avaliar a tolerância à dessecação dos grãos de pólen de *Lymania*. O teor de água das anteras foi determinado em balança de precisão com precisão de quatro casas decimais. Primeiramente, folhas de papel alumínio foram pesadas e utilizadas para formar envelopes (Pt). Em seguida, as anteras contendo os grãos de pólen foram colocadas sobre a folha e pesadas novamente para determinação do peso úmido (Pu). As amostras foram submetidas à dessecação em sílica gel ativada (500 g), em ambiente fechado (dessecador de vidro – 5 L), por três intervalos de tempo (1, 3 e 6 horas). Após esse procedimento, os envelopes contendo as anteras desidratadas foram pesados para determinação do peso seco (Ps). O teor de umidade dos grãos de pólen foi então calculado pela seguinte equação: $U = [(Pu - Ps) / (Pu - Pt)] \times 100$. Onde: U = teor de umidade das anteras com grãos de pólen (%); Pu = peso úmido (g); Ps = peso seco (g); e Pt = peso tara (g). Em seguida, avaliou-se a viabilidade dos grãos de pólen desidratados e recém-coletados (controle), distribuindo-os com auxílio de pincel (uma flor por repetição com seis anteras) em placas de Petri (60 mm x 15 mm de altura) contendo 10 mL de meio de cultura BK (Brewbacker e Kwack 1993), constituído de 10% de sacarose, H^3BO^3 (0,01%), $Ca(NO^3)^2 \cdot 4H_2O$ (0,03%), $MgSO^4 \cdot 7H_2O$ (0,02%), KNO^3 (0,01%) e ágar (0,5%), com pH ajustado para 6,5. As placas com os grãos de pólen foram mantidas em câmara de crescimento no escuro a 25 ± 2 °C por 24 horas, sendo então coradas com azul de toluidina 0,05%, conforme metodologia descrita por Souza et al. (2018). O número de grãos de pólen por flor varia de acordo com a espécie de *Lymania* e é descrito em Mota et al. (2024).

Para determinar a porcentagem de germinação, todos os grãos de pólen em cada placa de Petri, germinados ou não, foram contados. As medições foram realizadas em cinco tubos polínicos selecionados aleatoriamente em cada quadrante de três placas, totalizando 60 tubos polínicos por espécie avaliada. Os grãos de pólen foram considerados germinados quando o comprimento do tubo era maior ou igual ao diâmetro do grão.

Delineamento experimental e análise dos dados

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3 x 8 (três intervalos de desidratação x oito espécies), com três repetições, cada uma representada por uma placa de Petri. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados usando arco seno ($\sqrt{x/100}$) antes da análise estatística. As médias foram comparadas por meio da análise de variância (ANOVA) e do teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para intervalos de desidratação, e do teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$) para espécies. Todas as análises foram realizadas com o software R (R Core Team 2024).

Conservação dos grãos de pólen

As anteras contendo grãos de pólen desidratados (3 horas em sílica gel ativada) foram colocadas em tubos criogênicos de 3 mL, armazenados em freezer (FR) a -5 °C ou em nitrogênio líquido (NL) a -196 °C por períodos de um dia, 30 dias, 180 dias e 365 dias. Após cada período de armazenamento, as amostras foram avaliadas quanto à viabilidade dos grãos de pólen, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Para cada espécie e tratamento, foram utilizadas três repetições, sendo cada repetição composta por uma flor.

Germinação in vitro de grãos de pólen

Com o auxílio de um pincel, os grãos de pólen armazenados em nitrogênio líquido (NL) e no congelador (FR) foram distribuídos em placas de Petri (60 mm x 15 mm de altura) contendo 10 mL do mesmo meio de cultura descrito anteriormente. As placas com os grãos de pólen foram mantidas e avaliadas conforme descrito anteriormente.

Delineamento experimental e análise dos dados

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 4 x 8 (método de conservação x período de armazenamento x espécie), com três repetições, cada uma representada por uma placa de Petri. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados usando arco seno ($\sqrt{x/100}$) antes da análise estatística. As médias foram comparadas por análise de variância (ANOVA) e teste F ($p \leq 0,05$) para métodos de conservação, teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para períodos de armazenamento e teste de Scott-

Knott ($p \leq 0,05$) para espécies. Todas as análises foram realizadas com o software R (R Core Team 2024).

Fertilização in vivo

Para estudos de fertilização utilizando grãos de pólen criopreservados, polinizações controladas foram realizadas com a mesma espécie (xenogamia), nas primeiras horas da manhã (antese) a uma temperatura natural de 27 ± 4 °C. Durante o período de floração (Tabela 1), as flores das plantas receptoras foram emasculadas e protegidas durante o período de pré-antese com sacos de voil, conforme descrito em Souza et al. (2018). As anteras descongeladas com grãos de pólen, preservadas tanto em NL quanto em FR, foram depositadas nos estigmas florais. O descongelamento ocorreu quando as anteras foram retiradas do armazenamento e transferidas para uma placa de Petri até chegarem às instalações do BAG-Bromélias (aproximadamente 5 minutos). Após a polinização, as flores foram novamente protegidas para evitar contaminação com pólen de outras espécies. As flores polinizadas foram etiquetadas com o número do tratamento e a data da polinização. A formação dos frutos e o número de sementes por fruto foram avaliados após o amadurecimento (mudança de cor). O número de polinizações variou (6 a 29) de acordo com a disponibilidade de flores e é apresentado na Tabela 3.

Germinação das sementes

A germinação das sementes foi avaliada *in vitro* em condições de laboratório. As sementes geradas a partir de diferentes cruzamentos foram desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo) e água destilada (2:1) por 20 minutos, seguidas de três lavagens em água destilada autoclavada. Em seguida, foram colocadas em placas de Petri (100 mm x 20 mm de altura) contendo 15 mL de meio de cultura com metade das concentrações de sais MS (Murashige; Skoog, 1962), conforme descrito por Souza et al. (2009), com pH ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C por 20 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 27 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fotofluxo de $22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Todas as sementes foram estabelecidas em meio de cultura, e o número de sementes por placa variou de acordo com o número de sementes produzidas. O número máximo de sementes por placa foi 100.

A germinação (G) foi avaliada cumulativamente diariamente até a estabilização (Labouriau, 1983), em torno de 15 dias. Os dados foram expressos como a porcentagem média de sementes germinadas, com germinação definida como a emergência da raiz primária (Silva et al., 2020). O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado de acordo com a metodologia proposta por Maguire (1962) usando a expressão: $IGV = \sum(G_i/n_i)$, onde G_i = número de sementes germinadas e n_i = número de dias até a germinação; e TMG (tempo médio de germinação) = $(\sum G_i/n_i) / \sum G_i$ (Labouriau, 1983). Os dados de porcentagem de germinação e IGV foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), com os dados de germinação previamente transformados pelo teste arc seno ($\sqrt{x/100}$) antes da análise estatística. Todas as análises foram realizadas com o software R (R Core Team 2024).

Aclimatização das mudas

A partir das sementes germinadas, finalizando os 15 dias de avaliação em meio de cultura, sementes germinadas foram mantidas no mesmo meio de cultura por um período adicional de 90 dias objetivando promover o alongamento e o enraizamento. Ao atingirem altura média de aproximadamente 3 cm, as plantas foram retiradas do meio de cultura, lavadas em água corrente e transferidas individualmente para recipientes plásticos de 300 mL com substrato comercial Vivato®. Foram mantidas em casa de vegetação por 90 dias, sob luz natural e temperatura de 27 ± 1 °C.

Estabelecimento de um criobanco

Com base nos resultados obtidos, um criobanco de grãos de pólen de *Lymania* foi estabelecido para garantir a conservação a longo prazo desses alelos. O número de amostras (27 a 81) variou dependendo da disponibilidade de flores por espécie. O armazenamento das amostras seguiu os mesmos procedimentos descritos para os ensaios de conservação com nitrogênio líquido (antras com grãos de pólen coletadas na antese, desidratadas por 3 horas em sílica gel ativada para atingir o teor de água de aproximadamente 30% e armazenadas em tubos criogênicos de 3 mL).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as espécies de *Lymania* apresentaram viabilidade de grãos de pólen frescos (recentemente coletados - controle) acima de 81% e comprimento do tubo polínico maior que 0,7 mm (Figura 2). Não foram encontradas diferenças significativas entre as espécies na porcentagem de grãos de pólen viáveis (Figura 2a). No entanto, para o comprimento do tubo polínico, *L. globosa* apresentou os tubos mais longos (1,12 mm), seguida por *L. involucrata*, *L. azurea*, *L. spiculata* e *L. languida*, todas com comprimento médio de 0,97 mm (Figura 2b). Os menores comprimentos de tubo polínico foram observados em *L. corallina*, *L. brachycaulis* e *L. smithii*, com média de 0,75 mm (Figura 2b).

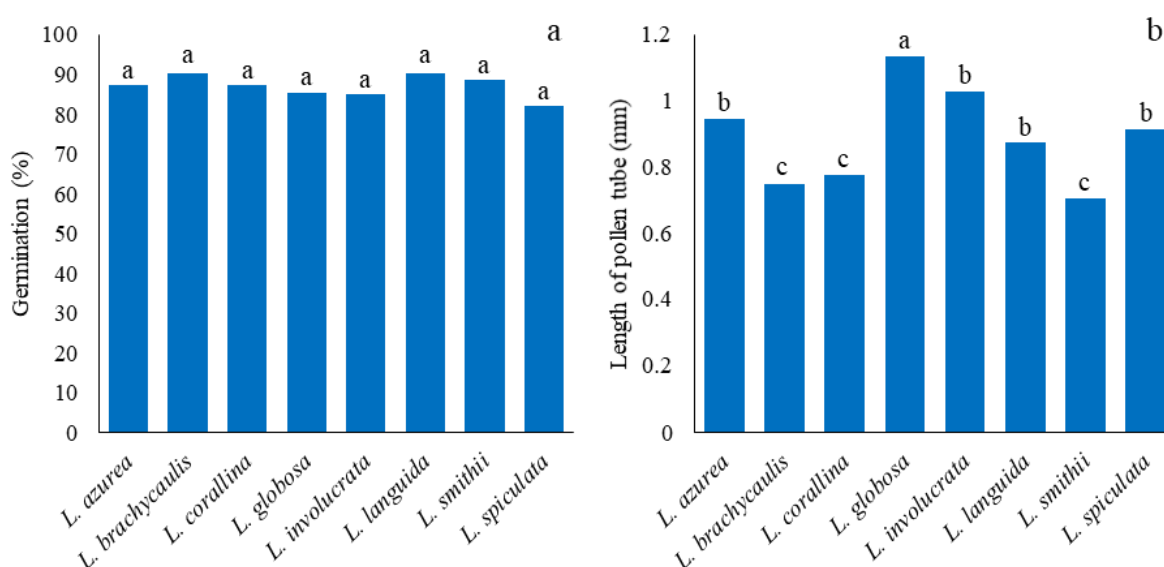


Figura 2. Germinação in vitro de grãos de pólen recém-coletados (a) e comprimento do tubo polínico (b) de oito espécies ameaçadas de extinção de *Lymania* (Bromeliaceae), endêmicas do Nordeste do Brasil. Médias seguidas pelas mesmas letras, dentro da mesma variável resposta, não diferem significativamente de acordo com o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em relação ao ensaio de desidratação, diferenças significativas foram observadas em 1 h, 3 h e 6 h para as três variáveis estudadas: teor de umidade das anteras com grãos de pólen (Figura 3a), germinação in vitro dos grãos de pólen (Figura 3b) e comprimento do tubo polínico (Figura 3c). O teor de umidade diminuiu significativamente com o aumento do tempo de exposição das anteras com grãos de pólen ao gel de sílica ativado em todas as oito espécies de *Lymania*. O teor de umidade variou de 86,44% a 79,82% após 1 hora, 30,17% a 39,75% após três horas e 11,22% a 12,56% após seis horas de exposição (Figura 3a). Não foram observadas diferenças significativas nas porcentagens de germinação do pólen ou no comprimento do tubo polínico durante os períodos de desidratação de 1 h e 3 h

(Figura 3b-c). Entretanto, após 6 h, houve reduções drásticas na viabilidade do pólen (abaixo de 15,57%) e no comprimento do tubo polínico (abaixo de 0,3 mm) (Figura 3b-c).

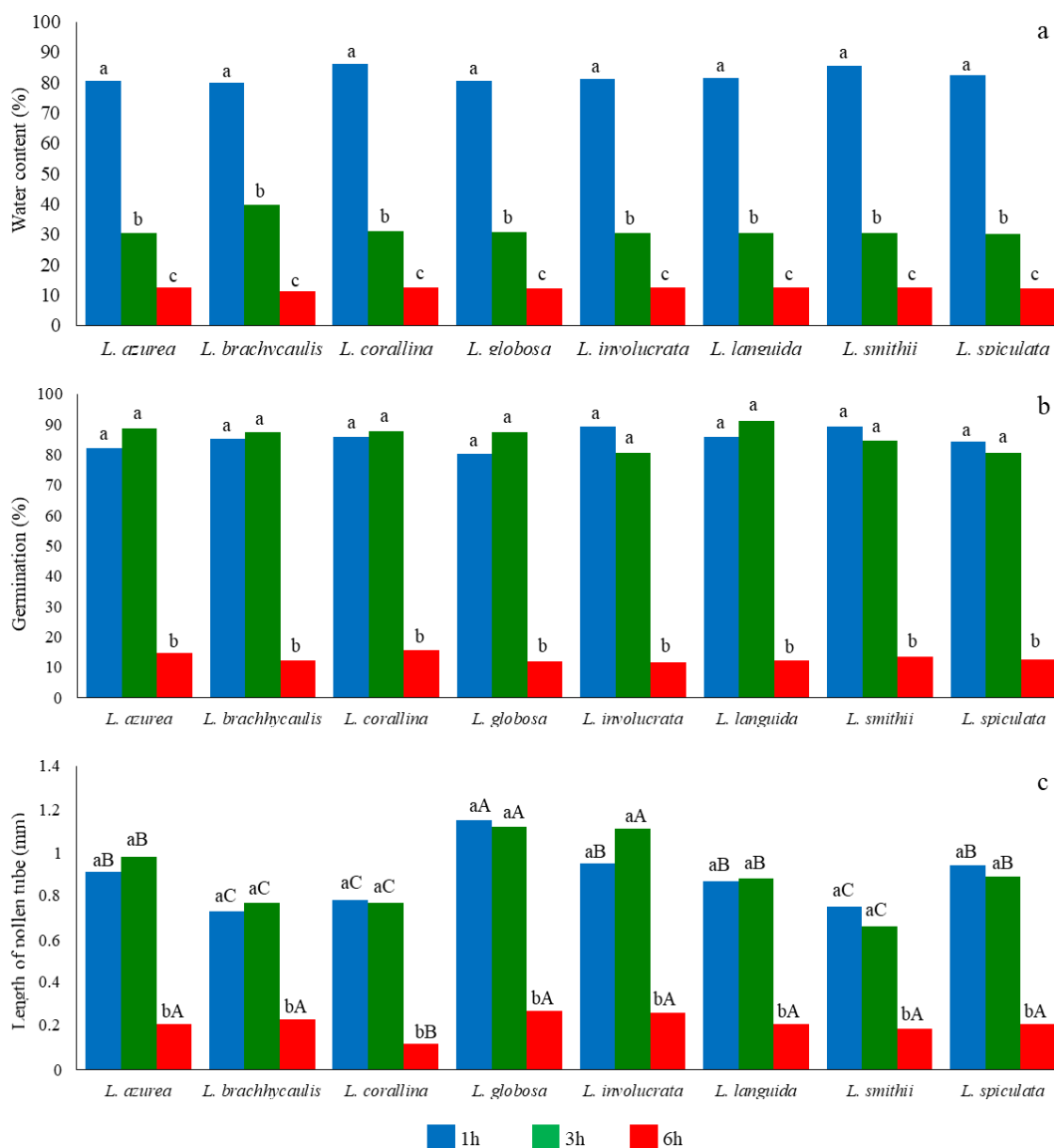


Figura 3. Teor de umidade, germinação de pólen in vitro e comprimento do tubo polínico após desidratação com sílica gel ativada em oito espécies ameaçadas de extinção de *Lymania* (Bromeliaceae), endêmicas do Nordeste do Brasil. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas entre os tempos de desidratação e letras maiúsculas entre as espécies não diferem significativamente de acordo com os testes de Tukey e Scott-Knott ($p < 0,05$), respectivamente.

O teor de água considerado seguro para a conservação dos grãos de pólen por criopreservação foi alcançado após três horas de exposição à sílica gel ativada e estabilizou-se em torno de 30%. Nessas condições, os grãos de pólen atingiram valores máximos de germinação de 91,12% em *L. languida* (Figura 3b) e comprimentos de tubo polínico de 1,12

mm em *L. globosa* (Figura 3c). O teor de água nas anteras portadoras de pólen deve ser suficiente para garantir a integridade celular durante o ultra-resfriamento e a reidratação pós-descongelamento, sem comprometer as funções celulares (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017). Evitar a formação de cristais de gelo, que causa danos celulares permanentes e altera o equilíbrio osmótico, é o principal objetivo da dessecação de estruturas celulares, como grãos de pólen, para criopreservação (Giordano et al., 2013). No entanto, a remoção excessiva de água pode comprometer o metabolismo e a viabilidade do pólen, como observado neste estudo.

Da mesma forma, Souza et al. (2015) relataram que o teor ideal de água em grãos de pólen de *Aechmea bicolor* L.B.Sm. (Bromeliaceae)(30%) foi atingido após 3 horas de dessecação com sílica gel ativada. Silva et al. (2017) constataram que, para variedades cultivadas e silvestres de abacaxi, o teor ideal de água (30%) foi atingido após 6 horas de dessecação nas mesmas condições. Assim, embora todas as espécies pertençam à mesma família, é necessário determinar o tempo ideal de dessecação.

Souza et al. (2015) realizaram análises ultraestruturais utilizando microscopia óptica e eletrônica e observaram que grãos de pólen imersos em nitrogênio líquido sem dessecação sofreram danos, como rupturas na exina e liberação de conteúdo citoplasmático devido à formação de cristais de gelo. Em contrapartida, grãos de pólen que atingiram o teor de água adequado para congelamento apresentaram resultados eficientes, comparáveis ao tratamento controle. Segundo Sprague e Johnson (1977), independentemente do método de armazenamento, o teor de umidade do pólen deve estar entre 8% e 10% para evitar a formação de cristais de gelo durante o congelamento. Connor e Towill (1993) afirmaram que a preservação bem-sucedida do pólen a longo prazo requer um teor de água entre 7% e 20%, com temperaturas de armazenamento variando de -80 °C a -196 °C. Embora seja recomendado que o teor de água do pólen seja inferior a 20% para uma criopreservação bem-sucedida, ainda não há estudos que definam a umidade mínima necessária para manter a viabilidade do pólen na família Bromeliaceae. Os três estudos conduzidos com Bromeliaceae (Souza et al., 2015; 2018; Silva et al., 2017) sugeriram que um teor de umidade ideal próximo a 30% resultou em bons resultados, conforme confirmado pela germinação *in vitro* e fertilização *in vivo* após a preservação em nitrogênio líquido. Em testes de conservação de pólen, diferenças significativas foram observadas entre os dois métodos de armazenamento (freezer a -5 °C e nitrogênio líquido a -196 °C) e tempos de armazenamento (um dia, 30, 180 e 365 dias). Grãos de pólen armazenados em freezer a -5 °C apresentaram germinação abaixo

de 17% e comprimentos de tubo polínico abaixo de 0,13 mm após 24 horas (Tabela 2, Figura 4a), indicando que o tratamento de dessecação e as condições ambientais não atenderam aos critérios necessários para prevenir danos celulares. Após 30 dias, nenhum grão de pólen permaneceu viável após o armazenamento em freezer (Tabela 2, Figura 4b). Todas as espécies exibiram comportamento semelhante sob essa condição de armazenamento. Em contraste, grãos de pólen armazenados em nitrogênio líquido permaneceram viáveis por 365 dias, com viabilidade superior a 89,5% e comprimentos de tubo polínico acima de 0,97 mm (Figura 4c, d). Não foram observadas diferenças significativas entre as espécies para os tempos de armazenamento.

Tabela 2. Germinação *in vitro* e comprimento do tubo polínico de oito espécies ameaçadas de extinção de *Lymania* (Bromeliaceae), endêmicas do Nordeste do Brasil, conservadas em duas temperaturas (freezer a -5 °C e nitrogênio líquido a -196 °C) por diferentes períodos de armazenamento.

armazenamento.

Espécies	Freezer (-5 °C)				Nitrogênio Líquido (-196 °C)			
	1 d	30 d	180 d	365 d	1 d	30 d	180 d	365 d
Germinação <i>in vitro</i> (%)								
<i>L. azurea</i>	16.8 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b	99.1 a	99.1 a	99.2 a	99.1 a
<i>L. brachycaulis</i>	15.5 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b	98.5 a	97.8 a	97.5 a	96.3 a
<i>L. corallina</i>	10.4 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b	98.8 a	97.9 a	97.5 a	97.4 a
<i>L. globosa</i>	14.1 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b	89.8 a	90.1 a	89.5 a	89.5 a
<i>L. involucrata</i>	12.3 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b	98.7 a	98.4 a	98.5 a	98.2 a
<i>L. languida</i>	13.5 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b	91.3 a	91.1 a	91.2 a	91.3 a
<i>L. smithii</i>	11.3 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b	97.5 a	96.9 a	97.1 a	97.2 a
<i>L. spiculata</i>	12.5 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b	96.8 a	96.8 a	96.2 a	96.1 a
CV (%)	28,35							
Comprimento do tubo polínico (mm)								
<i>L. azurea</i>	0.12 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	1.23 a	1.19 a	1.13 a	1.09 a
<i>L. brachycaulis</i>	0.11 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	1.05 a	1.15 a	1.10 a	1.11 a
<i>L. corallina</i>	0.10 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	1.21 a	1.13 a	1.00 a	0.99 a
<i>L. globosa</i>	0.13 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.99 a	0.98 a	0.99 a	0.97 a
<i>L. involucrata</i>	0.12 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	1.10 a	1.19 a	1.11 a	1.09 a
<i>L. languida</i>	0.10 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.99 a	1.12 a	1.15 a	1.09 a
<i>L. smithii</i>	0.11 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.99 a	1.08 a	1.08 a	1.00 a
<i>L. spiculata</i>	0.11 a	0.00 b	0.00 b	0.00 b	1.21 a	1.19 a	1.16 a	1.21 a
CV (%)	12.58							

Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma linha e dentro do mesmo fator (freezer e NL) não diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Também observamos um aumento na viabilidade do pólen e no comprimento do tubo para pólen conservado em nitrogênio líquido em comparação ao pólen fresco (controle) e pólen desidratado por três horas com gel de sílica ativada (Figura 3). Os resultados são consistentes com os achados de Silva et al. (2017), que relataram que a conservação em

nitrogênio líquido aumentou significativamente as porcentagens de germinação em comparação ao pólen fresco de plantas de abacaxi silvestres e cultivadas. Tanto a desidratação quanto a imersão em temperaturas ultrabaixas podem estressar estruturas celulares, como estruturas reprodutivas, o que pode aumentar as taxas de germinação (Souza et al., 2015). Outro fator a ser considerado é a potencial quebra da dormência do pólen, que Wang et al. (2012) também relatou ser um resultado do processo de desidratação. O aumento na viabilidade do pólen após a criopreservação e a desidratação não é comumente observado, e é mencionado apenas para Bromeliaceae por Silva et al. (2017). Ferreira et al. (2024), estudando a criopreservação de grãos de pólen de oito espécies de *Passiflora L.*, constataram que a conservação em nitrogênio líquido não aumentou as porcentagens de germinação em comparação ao pólen fresco. Da mesma forma, Dinato (2016) constatou que a viabilidade do pólen criopreservado de *Paspalum notatum* Flügge foi igual à do pólen fresco.

A germinação *in vitro* é uma das técnicas mais utilizadas para mensurar a viabilidade do pólen e tem sido extensivamente estudada entre espécies de Bromeliaceae, fornecendo resultados confiáveis (Soares et al., 2011; Souza et al., 2015; 2017; 2018; Silva et al., 2017; 2024; Mota et al., 2024; Fagundes et al., 2024). No entanto, essa técnica é realizada em laboratório e é influenciada por diversos fatores, como meio de cultura, temperatura, pH, entre outros. Ela não replica com precisão as condições naturais e, portanto, não garante uma fertilização bem-sucedida, visto que não garante que os grãos de pólen possam fertilizar os óvulos. A fertilização *in vivo* é, portanto, mais adequada para uma validação robusta dos resultados (Dane; Ekici, 2011; Souza et al., 2015; Silva et al., 2017). Consequentemente, ambos os métodos foi empregado neste estudo.

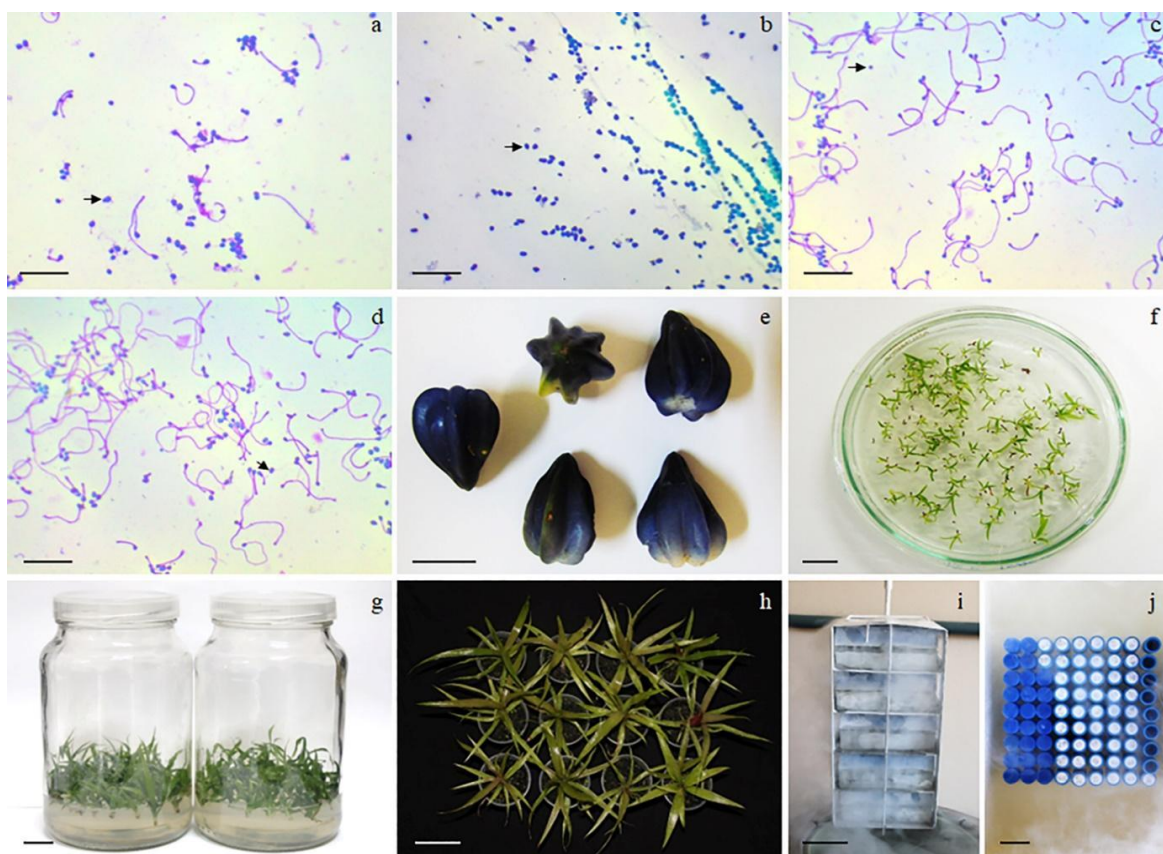


Figura 4. Diferentes estádios de conservação de pólen, desde a germinação *in vitro* até plantas aclimatizadas após conservação. a) Baixa porcentagem de germinação *in vitro* de pólen conservado em freezer (-5 °C) após um dia para *L. azurea*, b) Ausência de germinação *in vitro* de pólen conservado em freezer (-5 °C) após 30 dias para *L. globosa*. c) Alta porcentagem de germinação *in vitro* de pólen criopreservado (-196 °C) após um dia de *L. globosa*. d) Alta porcentagem de germinação *in vitro* de pólen criopreservado (-196 °C) após 365 dias de *L. spiculata*. e) Frutos maduros de *L. corallina* formados após polinização cruzada com pólen criopreservado por 365 dias. f) Germinação *in vitro* de sementes de *L. corallina* (derivadas de pólen criopreservado por 365 dias). g) Multiplicação *in vitro* de plântulas de *L. involucrata* a partir de pólen criopreservado por 365 dias. h) Mudas aclimatizadas de *L. languida* após 180 dias, a partir de pólen criopreservado por 365 dias. i) Criobanco estabelecido com base nos melhores resultados de desidratação e criopreservação. j) Caixa criogênica contendo amostras de pólen conservadas. Setas = pólen não viável. Barras: a-d = 5 mm; e-g = 1,2 cm; h = 8 cm; i = 6,5 cm; j = 2,5 cm.

Ensaio de polinização cruzada (xenogamia) com pólen conservado no congelador e nitrogênio líquido por um dia e 365 dias mostraram porcentagens de frutificação e números de sementes por fruto variáveis (Tabela 3, Figura 4e). As maiores porcentagens de frutificação (> 75%) e números de sementes (> 14,60) ocorreram com pólen criopreservado, tanto por um dia quanto por 365 dias. Notavelmente, *L. corallina*, *L. involucrata*, *L. smithii* e *L. spiculata* atingiram 100% de frutificação com pólen criopreservado por um dia e 365 dias. Por outro lado, baixas porcentagens de frutificação foram observadas com pólen conservado no congelador por um dia e nenhuma frutificação foi alcançada com pólen

conservado por 365 dias (Tabela 3). Esses achados estão alinhados com os de Souza et al. (2015), que relataram maior frutificação e número de sementes em *A. bicolor* com pólen conservado em nitrogênio líquido por 365 dias. Da mesma forma, Parton et al. (2002) constataram que a conservação de pólen em nitrogênio líquido resultou em maiores porcentagens de frutificação e número de sementes em comparação com outros métodos de conservação em várias espécies de Bromeliaceae, incluindo *Aechmea fasciata* (Lindl.) Baker.

Os maiores números de sementes foram registrados em *L. involucrata*, com uma média de 70,83 sementes, enquanto a menor produção foi em *L. azurea*, com uma média de 14,6 sementes. Os números de sementes obtidos a partir de cruzamentos xenógamos estão próximos dos valores e dentro do desvio padrão relatados por Mota et al. (2023), que estudaram os sistemas reprodutivos dessas mesmas espécies. Eles observaram a maior produção de sementes em *L. involucrata* ($87,52 \pm 53,45$ sementes) e *L. corallina* ($60,70 \pm 27,89$ sementes) no mesmo sistema de polinização xenogâmico. Outras espécies produziram variações de $12,67 \pm 5,71$ sementes de *L. azurea*, $17,70 \pm 15,10$ sementes de *L. languida*, $36,44 \pm 14,70$ sementes de *L. spiculata*, $44,30 \pm 12,05$ sementes de *L. smithii*, $48,35 \pm 19,21$ sementes de *L. globosa* e $48,60 \pm 16,91$ sementes de *L. brachycaulis* (Mota et al., 2023). Como Mota et al. (2023) estudaram as mesmas espécies relatadas nesse estudo, sob as mesmas condições e com a mesma origem vegetal. Seus achados serviram de referência útil para essa investigação.

Os resultados da fertilização *in vivo* foram consistentes com os resultados da germinação de pólen *in vitro*, indicando que as condições de laboratório mediram efetivamente a viabilidade do pólen criopreservado.

A conservação bem-sucedida em nitrogênio líquido não apenas preserva parte do *pool* genético dessas espécies, mas também é crucial para programas de melhoramento genético. Ela aborda questões como a floração assíncrona, que pode complicar hibridizações de interesse (Rajasekharan; Ravi, 2023; Ferreira et al., 2024). A assincronia da floração das espécies de *Lymania* é evidente na Tabela 1, segundo a qual a maioria das espécies floresceu no segundo semestre, começando com *L. brachycaulis* (jul/ago) e terminando nos primeiros meses do ano com *L. smithii* (nov/fev). Algumas espécies apresentaram sobreposição na floração, como *L. involucrata* e *L. corallina* (agosto/set) e *L. azurea*, *L. smithii* e *L. spiculata* (nov/dez), limitando a disponibilidade de flores para os cruzamentos desejados. O interesse ornamental por espécies de *Lymania* está aumentando, com hibridizações controladas

visando o desenvolvimento de híbridos que atendam à demanda do mercado e, ao mesmo tempo, reduzam a extração predatória (Mota et al., 2023).

Além disso, essas espécies são microendêmicas: *L. spiculata* é registrada apenas em Jussari, *L. azurea* em Una, *L. involucrata* em Igrapiúna e *L. brachycaulis* em Camamu. Assim, a criopreservação de pólen pode ser uma alternativa complementar valiosa para a conservação dessas espécies de *Lymania* ameaçadas de extinção. O uso de pólen criopreservado de populações naturais endêmicas é valioso para a produção de sementes visando à conservação, mantendo a variabilidade genética dentro das populações e facilitando a hibridização controlada em espécies não simpátricas.

As sementes das polinizações foram germinadas em meio MS com metade das concentrações de sais e apresentaram alta viabilidade, com percentuais de germinação variando de 89,33% em *L. spiculata* a 98% em *L. corallina* e *L. languida* (Tabela 4, Figuras 4f-g). Esses resultados indicam a boa condição fisiológica das sementes e a ausência de barreiras pós-zigóticas. Da mesma forma, Pulido-Rueda et al. (2018) relataram altos percentuais de germinação para *Vriesea incurvata* Gaudich quando cultivadas no mesmo meio, sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade. Assim, além das condições fisiológicas das sementes, das condições de incubação e da maturidade das sementes, a escolha do meio de cultura impacta significativamente o sucesso da germinação das sementes nessas condições (Zeng et al., 2013).

Para o índice de velocidade de germinação, foram observadas diferenças significativas entre as espécies, com os maiores valores em *L. languida* (23,27), seguida por *L. spiculata* (16,77) e os menores em *L. globosa* (8,70). O índice de velocidade de germinação (IVG) é uma importante medida da qualidade fisiológica das sementes, pois indica a rapidez com que as sementes germinam, o que está diretamente relacionado ao seu vigor (Marcos Filho, 2015; Oliveira et al., 2021). Portanto, sementes que germinam mais rapidamente geralmente apresentam maior vigor, o que significa que têm maior probabilidade de se desenvolverem em mudas saudáveis e robustas (Marcos Filho, 2015; Braun et al., 2023; Eren et al., 2023).

Tabela 3. Polinizações com pólen conservado em freezer e nitrogênio líquido por um dia e 365 dias de oito espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) ameaçadas de extinção, endêmicas do Nordeste brasileiro.

Espécies	1 dia		365 dias	
	Freezer -5°C	Nitrogênio líquido -196°C	Freezer -5°C	Nitrogênio líquido -196°C
	Frutos com sementes *			

<i>L. azurea</i>	0 (0/8)	87 (7/8)	0 (0/18)	75 (15/20)
<i>L. brachycaulis</i>	33 (2/6)	100 (8/8)	0 (0/15)	83 (15/18)
<i>L. corallina</i>	25 (2/8)	100 (10/10)	0 (0/18)	100 (20/20)
<i>L. globosa</i>	10 (1/10)	90 (9/10)	0 (0/25)	90 (26/29)
<i>L. involucrata</i>	50 (5/10)	100 (10/10)	0 (0/12)	100 (12/12)
<i>L. languida</i>	0 (0/6)	90 (9/10)	0 (0/20)	80 (12/15)
<i>L. smithii</i>	50 (3/6)	100 (10/10)	0 (0/15)	100 (18/18)
<i>L. spiculata</i>	60 (6/10)	100 (10/10)	0 (0/15)	100 (20/20)
Sementes por frutos **				
<i>L. azurea</i>	0	14.71 ± 2.98	0	14.60 ± 3.97
<i>L. brachycaulis</i>	25.00 ± 14.14	58.12 ± 7.10	0	56.13 ± 8.36
<i>L. corallina</i>	5.50 ± 3.53	58.30 ± 8.35	0	57.05 ± 7.70
<i>L. globosa</i>	12	45.67 ± 6.70	0	44.69 ± 7.27
<i>L. involucrata</i>	18.20 ± 10.42	70.80 ± 12.06	0	70.83 ± 10.94
<i>L. languida</i>	0	25.22 ± 3.92	0	22.17 ± 4.42
<i>L. smithii</i>	6.67 ± 5.03	37.60 ± 3.92	0	36.78 ± 5.21
<i>L. spiculata</i>	10.4 ± 7.76	42.00 ± 3.12	0	40.35 ± 5.20

*Número de frutos colhidos com sementes / número de polinizações realizadas (Porcentagem de sementes formadas por fruto)

**Valor médio de sementes por fruto ± desvio padrão.

Lymania languida apresentou o menor tempo médio de germinação, de 4,48 dias, enquanto os maiores tempos foram observados em *L. globosa* (10,63 dias), *L. smithii* (9,23 dias) e *L. brachycaulis* (8,07 dias). Em relação ao pico de germinação, houve variação entre as espécies: as sementes de *L. languida* atingiram seu pico de germinação no 5º dia após o início da germinação no 1º dia, enquanto as sementes de *L. globosa* iniciaram a germinação no 7º dia e atingiram o pico no 12º dia.

No geral, as plantas apresentaram desenvolvimento morfológico normal, sem brotações laterais observadas (Figura 4h). A propagação de espécies a partir de sementes é crucial para programas de conservação, pois mantém parte da variabilidade genética da espécie (Pinto et al., 2010). As plantas germinadas e propagadas *in vitro* das oito espécies de *Lymania* foram aclimatizadas com sobrevivência média de 89% para *L. azurea*, 92% para *L. globosa*, *L. smithii* e *L. spiculata*, e 98% para *L. involucrata*, *L. languida*, *L. corallina* e *L. brachycaulis* (Figura 4h). A aclimação de plantas na família Bromeliaceae é uma fase crítica que envolve mudanças morfológicas, anatômicas e fisiológicas (Moraes et al., 2002; Agbidinoukoun et al., 2021; Villalobos-Olivera et al., 2023). Apesar dos cuidados especiais exigidos durante essa fase, os resultados demonstraram sucesso significativo na superação desses desafios, garantindo o desenvolvimento saudável e vigoroso das plantas.

Por fim, as plantas serão reintroduzidas em seus habitats naturais, visto que muitas estão em risco de extinção. Esse processo completará um ciclo completo, abrangendo o resgate de espécies ameaçadas para a conservação ex situ de plantas e grãos de pólen, e sua reintegração às populações originais.

Tabela 4. Porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação de sementes de polinizações cruzadas (xenogamia) utilizando grãos de pólen criopreservados por 365 dias de oito espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil e em risco de extinção.

Espécies	Germinação (%)	Índice de Velocidade de Germinação (IVG)	(Tempo Médio de Germinação (TMG))
<i>L. azurea</i>	93.33 ± 2.08 b	14.38 ± 0.72 c	6.96 ± 0.30 b
<i>L. brachycaulis</i>	95.33 ± 2.52 b	12.28 ± 0.68 d	8.07 ± 0.28 a
<i>L. corallina</i>	98.00 ± 2.00 a	13.97 ± 0.26 c	7.42 ± 0.28 b
<i>L. globosa</i>	91.00 ± 1.00 b	8.70 ± 0.20 f	10.63 ± 0.15 a
<i>L. involucrata</i>	91.33 ± 0.58 b	15.04 ± 0.80 c	6.27 ± 0.32 b
<i>L. languida</i>	98.00 ± 2.00 a	23.27 ± 0.94 a	4.48 ± 0.18 d
<i>L. smithii</i>	93.00 ± 4.36 b	10.24 ± 0.48 e	9.23 ± 0.25 a
<i>L. spiculata</i>	89.33 ± 2.52 b	16.45 ± 0.61 b	5.58 ± 0.07 c
CV(%)	5.21	4.45	3.30

Média ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente de acordo com o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IVG (índice de velocidade de germinação) = $\sum(G_i/n_i)$, onde G_i = número de sementes germinadas e n_i = número de dias até a germinação; e TMG (tempo médio de germinação) = $(\sum G_i/n_i) / \sum G_i$.

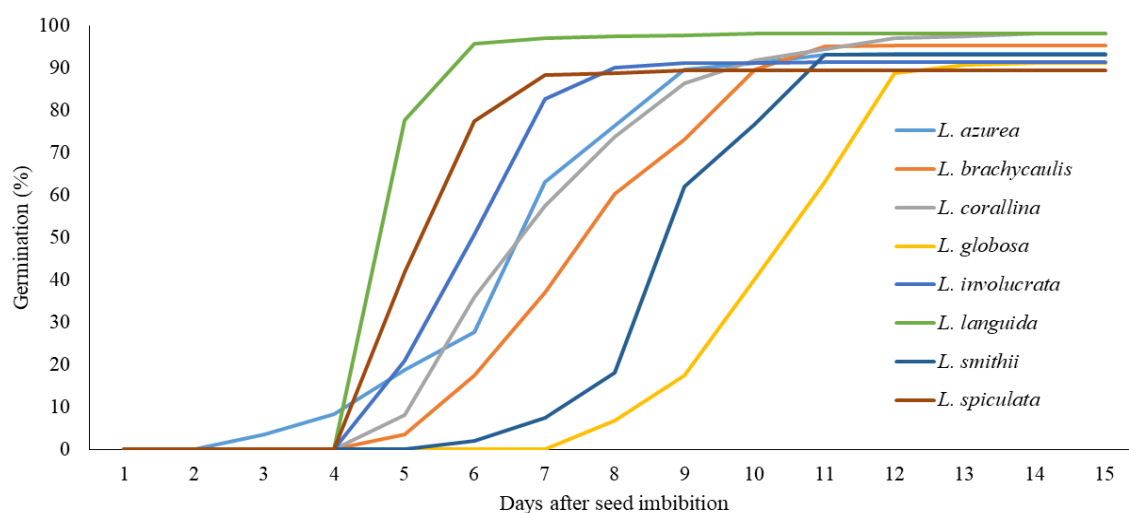


Figura 5. Porcentagem acumulada de germinação de sementes de polinizações com grãos de pólen criopreservados por 365 dias de oito espécies de *Lymania* (Bromeliaceae) endêmicas do Nordeste do Brasil e em risco de extinção, durante 15 dias após a embebição.

O criobanco de pólen de *Lymania* foi estabelecido com um número de amostras variando de 27 para *L. brachycaulis* a 81 para *L. corallina* (Figura 4i-j). O estabelecimento de criobancos para grãos de pólen provou ser uma estratégia promissora para a conservação e o melhoramento de diversas espécies de plantas, produzindo resultados significativos em relação à preservação da biodiversidade e à segurança alimentar (Halewood et al., 2020; Yazbek; Abberton, 2021; Sorokhaibam et al., 2023; Anushma et al., 2024; Ferreira et al., 2024). Planejamos realizar a próxima avaliação de viabilidade do pólen criopreservado, potencialmente após um período de dez anos em nitrogênio líquido (NL), para avaliar os efeitos da preservação a longo prazo e a estabilidade da viabilidade do pólen em condições de temperatura ultrabaixa. Isso fornecerá informações valiosas sobre a eficácia da criopreservação prolongada para futuras pesquisas e esforços de conservação.

Estudos recentes indicam que a criopreservação pode manter a viabilidade do pólen por períodos prolongados, permitindo a reintrodução de variedades perdidas e a diversificação genética das culturas (Souza et al., 2015; Silva et al., 2017; Ferreira et al., 2024). Além disso, o uso de criobancos tem facilitado a pesquisa sobre resistência a doenças e adaptação às mudanças climáticas, contribuindo para o desenvolvimento de cultivares mais robustas e resilientes (Aribi et al., 2024; Nagel et al., 2024). Portanto, os avanços contínuos nessa área oferecem uma perspectiva promissora para a sustentabilidade agrícola e a proteção da biodiversidade global.

O manejo do criobanco segue critérios rigorosos e protocolos padronizados para coleta de amostras, testes de viabilidade in vitro e avaliações de fertilidade em condições de campo. Um dos critérios exige a deposição de amostras adicionais para permitir o monitoramento anual da viabilidade a longo prazo. O projeto do criobanco incorpora essas avaliações, coletando e armazenando sistematicamente os resultados em um banco de dados dedicado. Ações futuras para aprimorar os padrões de qualidade incluem a adoção de rótulos criogênicos com códigos de barras e recursos de leitura digital, além da implementação de um sistema de *backup* seguro.

Os grãos de pólen criopreservados desempenham um papel crucial no combate à assincronia da floração, que limita os esforços de reprodução dessas espécies. Além disso, o cruzamento controlado com esse pólen favorece a produção de sementes, facilitando a reintrodução da variabilidade genética no ambiente natural.

CONCLUSÃO

A criopreservação combinada com a desidratação prévia de anteras com grãos de pólen por três horas em sílica gel ativada para atingir o teor de água de aproximadamente 30% é uma técnica segura e eficaz para a conservação de grãos de pólen de oito espécies de *Lymania* por um período de 365 dias. A conservação de grãos de pólen em freezer (-5 °C) não foi eficaz. Os resultados obtidos neste estudo podem contribuir significativamente para programas de melhoramento genético e conservação, bem como para superar a assincronia de floração de espécies de *Lymania*. A criação do criobanco é crucial para a preservação de parte da variabilidade genética das espécies de *Lymania*, especialmente aquelas em risco de extinção.

REFERÊNCIAS

- Agbidinoukoun, A.; Ouikoun, G.; Mikpon, T.; Kamade, G.; Badou, B.; Aïso, R.; Houedjissin, S.; Houngue, J.; Dossoukpevi, R.; Ahanhanzo, C. Influence of watering solution and phenotype on the growth of in vitro propagated pineapple (Smooth Cayenne Cultivar) plantlets during acclimatization. **Agricultural Sciences**, v.12, n. 8, p.1215-1230, 2021.
- Anushma, P. L.; Rajasekharan, P. E.; Singh, T. H. Pollen cryobanking in wild solanums for conservation and utilization of nuclear genetic diversity. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 71, n. 10, p. 2687-2697, 2024.
- Aribi, M. M. Plant Gene Banks: Conservation of Genetic Resources. In: Al-Khayri, J. M.; Jain, S. M.; Penna, S. (eds) **Sustainable utilization and conservation of plant genetic diversity**. Sustainable Development and Biodiversity. Springer, Singapore, v. 35, p. 753-775, 2024.
- Bettoni, J. C.; Bonnard, R.; Volk, G. M. Challenges in implementing plant shoot tip cryopreservation technologies. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 144, n. 1, p. 21–34, 2021.
- Brasil, **Ministério do Meio Ambiente**. Mata Atlântica. Disponível em: https://antigo.mma.gov.br/biomas/mata-atl%C3%A2ntica_emdesenvolvimento.html Acesso: 12 jun. 2024.
- Brasil, **Ministério do Meio Ambiente**. Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022. ICMBIO. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf f. Acesso: 30 jul. 2024.
- Braun, R. C.; Courtney, L. E.; Patton, A. J. Seed morphology, germination, and seedling vigor characteristics of fine fescue taxa and other cool-season turfgrass species. **Crop Science**, v. 63, n. 4, p.1613-1627, 2023.
- Brewbaker, J. L.; Kwack, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.
- Connor, K. F.; Towill, L. E. Pollenhandling protocol and hydration/dehydration characteristics of pollen for application to long-term storage. **Euphytica**, v. 68, n. 1-2, p. 77–84, 1993.
- Dane, F. Y.; Ekici, N. Pollen tube growth of *Paeonia tenuifolia* L. (Paeoniaceae) in vitro and in vivo. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 40, n. 1, p. 93-95, 2011.
- Dinato, N. B. Conservação a longo prazo de grãos de pólen de *Paspalum notatum* Flugge visando o uso de espécies de florescimento assíncrono em programas de melhoramento genético. 2016. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

Eren, E.; Ermis, S.; Oktem, G.; Demir, I. Seed longevity potential predicted by radicle emergence (RE) vigor test in watermelon seed cultivars. **Horticulturae**, v. 9, n. 4, p. 280, 2023.

Fagundes, A.; Souza, E. H.; Silveira, F. L.; Machado, I. C.; Siqueira-Filho, J. A. Autogamy ensures reproductive success in the bromeliad *Dyckia dissitiflora* Schult.f., endemic to the Brazilian caatinga domain. **Plant Species Biology**, v. 39, n. 1, p.1-15, 2024.

Fao (Food and Agriculture Organization) **A Global Treaty for Food Security and Sustainable Agriculture. International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture**; Rome: FAO, 2009.

Ferreira, M. S.; Costa, E. M. R.; Cruz, C. R. P.; Jesus, O. N.; Souza, F. D. V. Strategy for establishing a pollen cryobank of wild species of *Passiflora* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 71, n. 9, p. 1-15, 2024.

Forzza, R. C.; Costa, A. F.; Leme, E. M. C.; Versieux, L. M.; Wanderley, M. G. L.; Louzada, R. B.; Monteiro, R. F.; Judice, D. M.; Fernandez, E. P.; Borges, R. A. X.; Penedo, T. S. A.; Monteiro, N. P.; Moraes, M. A. Bromeliaceae. In: Martinelli, G.; Moraes, M. A. (Orgs) **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013, 315-397 p.

Forzza, R. C.; Costa, A. F.; Maciel, J. R.; Kessous, I. M.; Monteiro, R. F.; Faria, A. P.G.; Tardivo, R. C.; Büneker, H. M.; Saraiva, D. P.; Moreira, B. A.; Jacques, S. S. A.; Almeida, M. M.; Santos-Silva, F.; Louzada, R. B.; Moura, R. L.; Couto, D. R.; Neves, B.; Oliveira, F. M. C.; Araújo, C. C.; Gonçalves-Oliveira, R. C.; Versieux, L. M.; Romanini, R. P.; Machado, T. M.; Silva, R. S. A.; Paixão Souza, B.; Gomes-da-Silva, J.; Uribbe, F. P.; Guarçoni, E. A. E.; Sousa, L. O. F.; Pontes, R. A. S.; Nogueira, M. G. C.; Sousa, G. M.; Koch, A. K.; Picanço, W. L.; Cardoso, P. H.; Martins, S. E.; Barbosa-Silva, R. G.; Wanderley, M. G. L. **Bromeliaceae in Flora e Funga do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB66>. Acesso em: 12 jul. 2024.

Ganeshan, S.; Rajasekharan, P. E.; Shashikumar, S.; Decruze, W. **Cryopreservation of Pollen**. In: Reed, B. M (ed) **Plant cryopreservation: a practical guide**. New York: Springer, 2008, 281–332 p.

Giordani, E.; Naval, M.; Benelli, C. **In vitro propagation of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.)**. In: Lambardi, M.; Ozudogru, E.A.; Jain, S.M. (Eds.), **Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants**. Ney York: Humana Press, 2013, 89–98 p.

Grout, B. W. W.; Roberts, A. V. **Storage of free pollen, pollen embryos and the zygotic embryos of seed by cryopreservation and freeze drying**. In: Grout, B.W.W (ed) **Genetic preservation of plant cells in vitro**. Springer-Verlag, 1995, 63–74 p.

Halewood, M.; Jamora, N.; Lopez Noriega, I.; Anglin, N. L.; Wenzl, P.; Payne, T.; Ndjiondjop, M. N.; Guarino, L.; Kumar, P. L.; Yazbek, M.; Muchugi, A.; Azevedo, V.;

Tchamba, M.; Jones, C. S.; Venuprasad, R.; Roux, N.; Rojas, E.; Lusty, C. Germplasm acquisition and distribution by CGIAR genebanks. **Plants**, v. 9, n. 10, p. 1296, 2020.

IUCN (International Union for Conservation of Nature). **The IUCN red list of threatened species**, 2013. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org/>. Acesso 30 Jul 2024.

Labouriau, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Washington, 1983.

Liu, S.; Zhu, M.; Ma, W.; Wan, Y.; Liu, Y. Effects of calcium ions and cell wall deposition on the pollen viability of *Paeonia lactiflora* after cryopreservation. **Planta**, v. 260, art. 96, 2024.

Maguire, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v. 2, p.176-177, 1962.

Marcos-Filho, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015.

Marques, M. C. M.; Grelle, C. E. V. **The Atlantic Forest: History, Biodiversity, Threats and Opportunities of the Mega-diverse Forest**. New York: Springer, 2021

Moraes, L. M.; Cavalcante, L. C. D.; Faria, R. T. Substratos para aclimatização de *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae) propagadas in vitro. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 24, p.1397-1400, 2002.

Mota, S. S.; Faro, I. A. M.; Cavalcante, B. P. C.; Souza, F. V. D.; Aona, L. Y. S.; Costa, M. A. P. C.; Souza, E. H. Reproductive systems and hybridization of *Lymania* species (Bromeliaceae) endemic to Northeast Brazil threatened with extinction. **Scientia Horticulturae**, v. 322, p.112447, 2023.

Mota, S. S.; Faro, I. A. M.; Soares, T. L.; Almeida, P. S.; Souza, F. V. D.; Aona, L. Y. S.; Costa, M. A. P. C.; Rossi, M. L.; Souza, E. H. Pollen morphology and viability of *Lymania* (Bromeliaceae) species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 338, n.1, p. 112-890, 2024.

Murashige, T. C.; Skoog, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Da Fonseca, G. A. B.; Kent, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

Nagel, M.; Pence, V.; Ballesteros, D.; Lambardi, M.; Popova, E.; Panis, B. Plant cryopreservation: principles, applications, and challenges of banking plant diversity at ultralow temperatures. **Annual Review of Plant Biology**, v. 75, p. 797-824, 2024.

- Oliveira, R. S.; Souza, F. V. D.; Santos, I. L.; Souza, S. O.; Aona, L. Y. S.; Souza, E. H. Cryopreservation and low-temperature storage of seeds of *Tillandsia* species (Bromeliaceae) with ornamental potential. **3 Biotech**, v. 11, p.186, 2021.
- Parton, E.; Vervaeke, I.; Delen, R.; Vandenbussche, B.; Deroose, R. D. E.; Proft, M. P. Viability and storage of bromeliad pollen. **Euphytica**, v.125, p. 155–161, 2002.
- Pinto, J.R.S.; Freitas, R.M.O.; Praxedes, S. C. Stimulation of in vitro development of *Cattleya granulosa* by sucrose. **General and applied Plant Physiology**, v. 36, n. 3/4, p. 183-188, 2010.
- Pulido-Rueda, E. E.; Milaneze-Gutierrez, M. A.; Negrelle, R. In vitro germination and growth of *Vriesea incurvata* Gaudich. **Acta Agronomica**, v. 67, n.1, p. 140-145, 2018.
- R Core Team. **R Foundation for Statistical Computing**. Disponível em: <https://www.R-project>, 2023. Acesso em: 27 de jul. 2024.
- Rajasekharan, P. E, Ravi, H. Viability and fertility of cryopreserved pollen of Brinjal and its wild relatives. **Journal of Plant Sciences**, v. 70, p. 233-243, 2023.
- Rajasekharan, P. E.; Rohini, M. R. Pollen cryopreservation: advances and prospects. In: Rajasekharan, P.; Rohini, M. (Eds.). **Pollen cryopreservation protocols**. Springer Protocols Handbooks. New York: Humana, 2023. 1–18 p.
- Reed, B. B. **Plant Cryopreservation: A Practical Guide**. Springer, New York, 2008.
- Santos, I. R. I. Criopreservação: Potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, v. 12, (Esp.), p. 70-84, 2000.
- Silva, R. L.; Souza, E. H.; Vieira, L. J.; Cruz, C. R. P.; Souza, F. V. D. Cryopreservation of pollen of wild pineapple accessions. **Scientia Horticulturae**, v. 219, p. 326– 334, 2017.
- Silva, S. S. S.; Souza, E. H.; Neponusceno, C. F.; Souza, F. V. D.; Costa, M. A. P. C. (2020) Micropropagation and in vitro conservation of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), an endemic and endangered species of the Brazilian Atlantic Forest. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 42, p. 2-10, 2020.
- Silva, T. A.; Nascimento, G. Q. S. S.; Almeida, O. S.; Cavalcante, B. P.; Souza, F. V. D.; Aona, L. Y. S.; Costa, M. A. P. C.; Souza, E. H. Pollen morphology, viability, and stigma receptivity of *Hohenbergia* (Bromeliaceae) species occurring in the Atlantic forest biome with potential for landscaping and cut flowers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 2024.
- Siqueira Filho, J. A.; Machado, I. C. S. Biologia reprodutiva de *Canistrum aurantiacum* E. Morren (Bromeliaceae) em remanescente da floresta Atlântica, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, p. 427-443, 2001.
- Soares, T. L.; Souza, E. H.; Rossi, M. L.; Souza, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1744-1749, 2011.

Sorokhaibam, S.; Tandon, R.; Agrawal, A.; Shivanna, K. R. Quantitative assessment of oil palm pollen after 23 years of cryobanking. **Cryoletters**, v. 44, p. 20-25, 2023.

Sousa, L.O.F.; Wendt, T. Taxonomy and conservation of the genus *Lymania* (Bromeliaceae) in the southern Bahian atlantic forest of Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 157, p. 47–66, 2008.

Souza, E. H.; Carmello-Guerreiro, S. M.; Souza, F. V. D.; Rossi, M. L.; Martinelli, A. P. Stigma structure and receptivity in Bromeliaceae. **Scientia Horticulturae**, v. 203, n. 1, p. 118-125, 2016.

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

Souza, E. H.; Versieux, L. M.; Souza, F. V. D.; Rossi, M. L.; Costa, M. A. P. C.; Martinelli, A. P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems. **Scientia Horticulturae**, v. 221, p. 53-61, 2017.

Souza, E.H.; Aona, L.Y.; Souza, F.V.D.; Leme, E.M. *Lymania involucrata* (Bromeliaceae: bromelioideae), a new ornamental species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, v. 489, p. 209–215, 2021.

Souza, F. V. D.; Souza, A. S.; Santos-Serejo, J. A.; Souza, E. H.; Junghas, T. G.; Silva, M. J. Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas. In: JUNGHAS, T. G.; SOUZA, A. S. (eds) Aspectos práticos da micropropagação de plantas, 1st edn. **Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**, Cruz das Almas, 2009, 177-205 p.

Souza, F. V. D.; Souza, E. H.; Silva, R. L. Cryopreservation of pollen grains of pineapple and other bromeliads. In: Loyola-Vargas, V.; Ochoa-Alejo, N. (Org.). **Plant cell culture protocols**. New York: Humana Press, 2018. 13–26 p.

Sprague, J. R.; Johnson, V. W. Extraction and storage of loblolly pine (*Pinus taeda*) pollen. In: Proceedings of 14 Southern forest tree improvement conference, Eastern Tree Seed, **Macon**, p. 20-27, 1977.

Villalobos-Olivera, A.; Lorenzo-Feijoo, J. C.; Quintana-Bernabé, N.; Leiva-Mora, M.; Bettoni, J. C.; Martínez-Montero, M. E. Morpho-anatomical and physiological assessments of cryo-derived pineapple plants (*Ananas comosus* var. *comosus*) after acclimatization. **Horticulturae**, v. 2023, p. 9:841, 2023.

Wang, Y.; Chu, Y. J.; Xue, H. W. Inositol polyphosphate 5-phosphatase-controlled Ins(1, 4, 5) P₃/Ca²⁺ is crucial for maintaining pollen dormancy and regulating early germination of pollen. **Development**, v. 139, p. 2221-2233, 2012.

Yazbek, M.; Abberton, M. Proposal for the conservation and use of Genetic Resources (Genebanks) initiative. **CGIAR Initiative Proposal: Conservation and Use of Genetic Resources (Genebanks)**, 2021.

Zeng, S.; Zhang, Y.; Silva, J. A. T.; WU, K. L.; Zhang, J.; Duan, J. Seed biology and in vitro seed germination of *Cypripedium*. **Critical Reviews in Biotechnology**, n. 34, p, 358-371. 2013.

CAPÍTULO 2

Sistemas Reprodutivos de espécies de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) ocorrentes no Estado da Bahia, Brasil

Sistemas reprodutivos de espécies de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) ocorrentes no Estado da Bahia, Brasil

RESUMO: As espécies do gênero *Tillandsia* (Bromeliaceae) constituem um dos grupos mais representativos das bromélias da Bahia, ocorrendo na Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e ecótonos associados. A elevada diversidade no estado, aliada ao hábito epifítico ou rupícola, reforça a necessidade de compreender seus sistemas reprodutivos, determinantes para a manutenção populacional, fluxo gênico e resposta a pressões ambientais. Este estudo teve como objetivo identificar os sistemas reprodutivos de 14 espécies de *Tillandsia* da Bahia, avaliar possíveis barreiras pré- e pós-zigóticas e quantificar frutificação e germinação provenientes de cruzamentos controlados. Foram conduzidos experimentos de polinização natural, autopolinização espontânea, autopolinização artificial, polinização cruzada e agamospermia, além da análise do crescimento do tubo polínico por microscopia de fluorescência após coloração com azul de anilina. As sementes resultantes foram germinadas *in vitro* em meio MS/2 por 45 dias, com cálculo de percentual de germinação (G%), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). As 14 espécies apresentaram predominância de alogamia, com alta frutificação sob polinização cruzada. Dez espécies (*T. bulbosa*, *T. candida*, *T. geminiflora*, *T. heubergeri*, *T. juncea*, *T. pohliana*, *T. polystachia*, *T. streptocarpa*, *T. stricta* e *T. tenuifolia*) foram autocompatíveis, caracterizando sistemas mistos; entre elas, *T. polystachia*, *T. pohliana*, *T. heubergeri*, *T. juncea*, *T. bulbosa*, *T. streptocarpa*, *T. stricta* e *T. geminiflora* também exibiram autopolinização espontânea. Em contraste, *T. candida*, *T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. iassuensis*, *T. milagrensis* e *T. tenuifolia* não produziram frutos por autopolinização espontânea, indicando barreiras à autofecundação natural. *Tillandsia chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. iassuensis* e *T. milagrensis* são predominantemente alógamas, apresentando barreiras pré-zigóticas compatíveis com autoincompatibilidade gametofítica. Não foi registrada agamospermia. A polinização cruzada mostrou-se altamente eficiente, com taxas de frutificação superiores a 80% em todas as espécies e maior número de sementes por fruto, alcançando 359,4 em *T. polystachia*. O crescimento do tubo polínico ocorreu de forma contínua nas espécies autocompatíveis, enquanto nas autoincompatíveis houve interrupção no estilete ou bloqueio na superfície do estigma. A germinação das sementes foi elevada, independentemente do sistema reprodutivo ($\geq 77\%$), com IVG variando de 0,487 em *T. heubergeri* a 0,876 em *T. candida*. O TMG oscilou entre 16 e 23 dias, sendo mais rápida e sincronizada em *T. pohliana* e *T. candida*, e mais lenta em *T. chapeuensis* e *T. milagrensis*. As plântulas apresentaram alto vigor, indicando ausência de barreiras pós-zigóticas. Os resultados evidenciam ampla flexibilidade reprodutiva no gênero *Tillandsia*, fornecendo subsídios importantes para estratégias de conservação, especialmente para espécies endêmicas e ameaçadas na Bahia.

Palavras-chave: Tillandsioideae, Bromélia, Estratégias reprodutivas; Conservação, Endemismo.

Reproductive systems of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) species occurring in the State of Bahia, Brazil

ABSTRACT: Species of the genus *Tillandsia* (Bromeliaceae) constitute one of the most representative groups of bromeliads in Bahia, occurring in the Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest, and associated ecotones. The high diversity in the state, combined with the epiphytic or rupicolous habit, highlights the need to understand their reproductive systems, which are key determinants for population maintenance, gene flow, and responses to environmental pressures. This study aimed to identify the reproductive systems of 14 *Tillandsia* species from Bahia, evaluate possible pre- and post-zygotic barriers, and quantify fruit set and germination resulting from controlled crosses. Experiments were conducted for natural pollination, spontaneous self-pollination, artificial self-pollination, cross-pollination, and agamospermy, in addition to analyzing pollen tube growth using fluorescence microscopy after staining with aniline blue. The resulting seeds were germinated *in vitro* on half-strength MS medium (MS/2) for 45 days, with calculation of germination percentage (G%), germination speed index (IVG), and mean germination time (TMG). All 14 species exhibited a predominance of allogamy, with high fruit set under cross-pollination. Ten species (*T. bulbosa*, *T. candida*, *T. geminiflora*, *T. heubergeri*, *T. juncea*, *T. pohliana*, *T. polystachia*, *T. streptocarpa*, *T. stricta*, and *T. tenuifolia*) were self-compatible, characterizing mixed reproductive systems; among them, *T. polystachia*, *T. pohliana*, *T. heubergeri*, *T. juncea*, *T. bulbosa*, *T. streptocarpa*, *T. stricta*, and *T. geminiflora* also exhibited spontaneous self-pollination. In contrast, *T. candida*, *T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. iassuensis*, *T. milagrensis*, and *T. tenuifolia* did not produce fruits by spontaneous self-pollination, indicating barriers to natural self-fertilization. *T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. iassuensis*, and *T. milagrensis* are predominantly allogamous, presenting pre-zygotic barriers consistent with gametophytic self-incompatibility. No agamospermy was recorded. Cross-pollination was highly efficient, with fruit set rates above 80% in all species and higher seed numbers per fruit, reaching 359.4 seeds in *T. polystachia*. Pollen tube growth occurred continuously in self-compatible species, whereas in self-incompatible species tube growth was interrupted in the style or blocked at the stigma surface. Seed germination was high regardless of the reproductive system ($\geq 77\%$), with IVG ranging from 0.487 in *T. heubergeri* to 0.876 in *T. candida*. TMG ranged from 16 to 23 days, being faster and more synchronized in *T. pohliana* and *T. candida*, and slower in *T. chapeuensis* and *T. milagrensis*. Seedlings exhibited high vigor, indicating the absence of post-zygotic barriers. These results demonstrate broad reproductive flexibility in the genus *Tillandsia*, providing important information for conservation strategies, particularly for endemic and threatened species in Bahia.

KEYWORDS: Tillandsioideae; Bromeliad; Reproductive strategies; Conservation; Endemism

INTRODUÇÃO

O gênero *Tillandsia* L. (subfamília Tillandsioideae) representa o maior e um dos mais importantes da família Bromeliaceae, reunindo mais de 748 espécies distribuídas em sete subgêneros: *Aerobia* Mez, *Anoplophytum* (Beer) Baker, *Diaphoranthema* (Beer) Baker, *Phytarrhiza* (Vis.) Baker, *Pseudovriesea* Barfuss e W.Till, *Tillandsia* e *Viridantha* (Espejo) W.Till & Barfuss (Barfuss et al., 2016; Gouda et al., 2024). Com espécies amplamente adaptadas a diferentes condições ambientais, *Tillandsia* apresenta elevado potencial ornamental devido à variedade de formas e cores (Souza et al., 2020a; 2020b). No Brasil, especialmente na Bahia, o gênero se destaca não apenas por sua beleza, mas por sua diversidade e endemismo. Embora vinte e sete espécies sejam aceitas para a Bahia (Tardivo et al., atualização contínua), sete novas espécies (muitas delas endêmicas) foram descritas recentemente (Leodegario et al., 2020; 2021; Souza et al., 2021), o que reflete a alta diversidade do estado, que compreende áreas dos domínios fitogeográficos da Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado.

A crescente perda de habitat e os impactos das atividades humanas sobre os ecossistemas reforçam a importância de estudos sobre os mecanismos biológicos que sustentam a sobrevivência e a perpetuação das espécies. Entre esses mecanismos, os sistemas reprodutivos desempenham papel central, pois estão diretamente relacionados à produção de sementes, à diversidade genética, à estrutura populacional e à estabilidade demográfica das espécies (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023). Assim, compreender a biologia reprodutiva das plantas é fundamental para a definição de estratégias eficazes de conservação, manejo e uso sustentável, tanto *in situ* quanto *ex situ* (Moritz, 1994).

Na família Bromeliaceae, os estudos sobre sistemas reprodutivos e estratégias de polinização têm avançado nas últimas décadas, revelando grande diversidade entre as espécies (Vervaeke et al., 2001; Wendt et al., 2002; Matallana et al., 2010; Paggi et al., 2015; Matallana et al., 2016; Souza et al., 2017; Cavalcante et al., 2020; Mota et al., 2023; Nascimento et al., 2025; Silva et al., 2025). As espécies podem se reproduzir tanto de forma assexuada, por estolões, rizomas ou agamospermia, quanto por meio da reprodução sexuada, que envolve autofecundação (autogamia), fecundação cruzada (alogamia) ou sistemas mistos, dependendo das condições ambientais (Souza et al., 2017; Fagundes et al., 2024). Essa variedade de estratégias permite que as Bromeliaceae colonizem ambientes extremamente distintos, desde os mais áridos até os mais úmidos (Benzing, 2000),

contribuindo para seu sucesso ecológico e ampla distribuição, especialmente em regiões tropicais.

Apesar dos avanços recentes, muitos grupos neotropicais ainda carecem de informações detalhadas sobre seus sistemas de reprodução (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023). Acredita-se que a alogamia seja o sistema reprodutivo basal na família, conforme registros em diversos gêneros (Givnish et al., 2007). Um dos mecanismos mais comuns que favorecem a alogamia é a autoincompatibilidade, na qual flores hermafroditas são incapazes de se autofertilizar devido à ativação de barreiras que impedem a germinação dos grãos de pólen ou o crescimento do tubo polínico (Souza et al., 2017; Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023). Essa característica, considerada ancestral nas angiospermas, favorece a variabilidade genética ao promover cruzamentos entre indivíduos distintos (Cavalcante et al., 2020).

As barreiras reprodutivas podem ser classificadas como pré-zigóticas ou pós-zigóticas, e constituem fator determinante para o sucesso reprodutivo das espécies (Souza et al., 2017). Entre as barreiras pré-zigóticas destacam-se a autoincompatibilidade e a ausência de vetores polinizadores eficientes, enquanto as pós-zigóticas incluem falhas no desenvolvimento do embrião ou inviabilidade das sementes (Sobel; Chen, 2014). Esses obstáculos podem ser agravados por distúrbios ambientais, fragmentação de habitat ou introdução de espécies exóticas, afetando negativamente a dinâmica reprodutiva e a viabilidade de populações naturais (Miller-Rushing et al., 2019). O conhecimento detalhado desses processos é, portanto, essencial para a formulação de estratégias de conservação e restauração ecológica.

Na Bahia, a distribuição de *Tillandsia* em diferentes biomas evidencia a ampla plasticidade ecológica do gênero (Leodegario et al., 2021). Segundo Pontes e Agra (2006), *Tillandsia* está entre os gêneros de Bromeliaceae mais bem representados na Caatinga; contudo, ainda existem poucas pesquisas voltadas à caracterização de sua diversidade nesse ecossistema. Considerando que parte expressiva dessas espécies é endêmica e potencialmente vulnerável à degradação ambiental, torna-se urgente ampliar os estudos que aprofundem o conhecimento sobre suas estratégias reprodutivas. Uma atenção especial deve ser direcionada aos mecanismos de autoincompatibilidade, pois estes podem influenciar diretamente o fluxo gênico e, consequentemente, a capacidade adaptativa das populações.

Os estudos sobre os sistemas reprodutivos de *Tillandsia* oferecem subsídios fundamentais para o manejo de espécies que requerem atenção especial (endêmicas, raras

ou inseridas em categorias de ameaça), fortalecendo diretamente as ações e estratégias de conservação. A aplicação desses dados pode auxiliar tanto na conservação *in situ*, com a criação ou ampliação de unidades de conservação, quanto em ações *ex situ*, como bancos de germoplasma ou reintrodução de espécies ameaçadas em seus habitats naturais (Ferreira et al., 2024; Andrade et al., 2025).

Dessa forma, compreender os sistemas reprodutivos das Bromeliaceae, em especial do gênero *Tillandsia*, amplia o conhecimento científico sobre a biologia desse grupo tão importante da flora brasileira e fornece bases para ações práticas de conservação e produção de mudas de forma sustentável. Em um cenário de mudanças ambientais aceleradas, esses estudos tornam-se indispensáveis para garantir a continuidade e a resiliência das populações vegetais nativas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar os sistemas reprodutivos de 14 espécies do gênero *Tillandsia* L.; avaliar as possíveis barreiras reprodutivas dessas espécies e avaliar a produção de frutos e germinação de sementes após cruzamentos controlados dessas espécies que ocorrem no Estado da Bahia, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

Foram estudadas 14 espécies do gênero *Tillandsia* com ocorrência no Estado da Bahia (Tabela 1, Figura 1). Todas as espécies foram coletadas em populações naturais e incorporadas ao Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) e ao Banco de Germoplasma de Bromélias (BGB Bromélia), vinculados ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura e Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. As coletas foram realizadas sob autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO nº 69870-1), e as atividades estão registradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN nº A9E9F8D).

Tabela 1. Espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil, incluindo subgênero, município de coleta e voucher do Herbário HURB.

Espécie	Subgênero	Município	Endemismo BA	HURB
<i>T. bulbosa</i> Hook.f.	<i>Tillandsia</i>	Ilhéus	Não	25395
<i>T. candida</i> Leme.	<i>Anoplophytum</i>	Morro do Chapéu	Bahia	23997
<i>T. chapeuensis</i> Rauh.	<i>Anoplophytum</i>	Morro do Chapéu	Brasil	23983
<i>T. gardneri</i> Lindl.	<i>Anoplophytum</i>	Ilhéus	Não	25393
<i>T. geminiflora</i> Brongn.	<i>Anoplophytum</i>	Brejões	Não	22222
<i>T. heubergeri</i> Ehlers.	<i>Anoplophytum</i>	Brejões	Bahia	17892
<i>T. iassuensis</i> L.Hrom. & H.Hrom.	<i>Anoplophytum</i>	Iaçu	Bahia	17887
<i>T. juncea</i> (Ruiz & Pav.) Poir.	<i>Tillandsia</i>	Santa Terezinha	Não	22220
<i>T. milagrensis</i> Leme.	<i>Anoplophytum</i>	Milagres	Bahia	17887
<i>T. pohliana</i> Mez	<i>Anoplophytum</i>	Morro do Chapéu	Não	23978
<i>T. polystachia</i> (L.) L.	<i>Tillandsia</i>	Milagres	Não	22131
<i>T. streptocarpa</i> Baker.	<i>Phyrarrhiza</i>	Milagres	Não	18591
<i>T. stricta</i> Sol.	<i>Anoplophytum</i>	Ilhéus	Não	25384
<i>T. tenuifolia</i> L.	<i>Anoplophytum</i>	Milagres	Não	15626

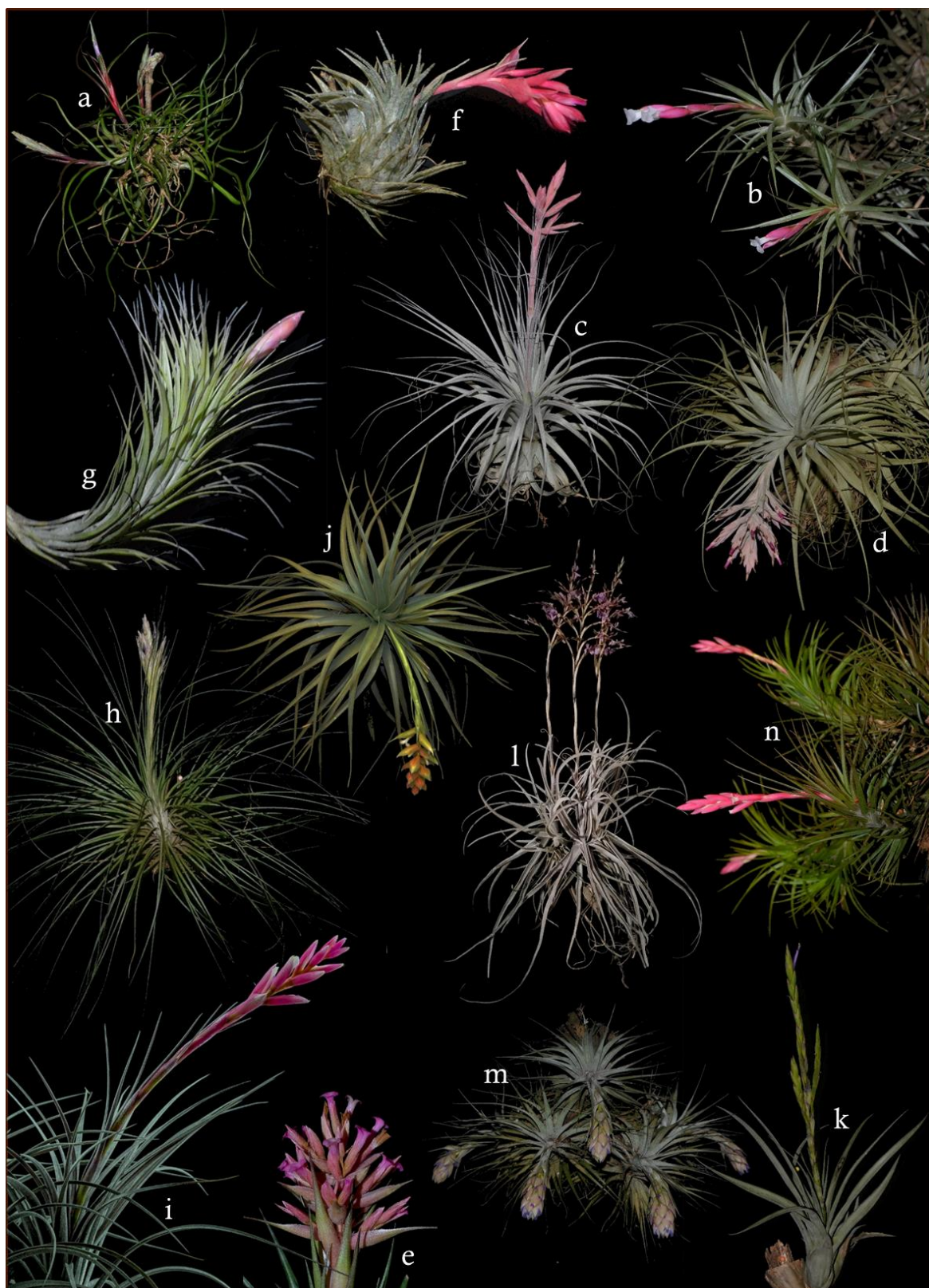


Figura 1. Espécies de *Tillandsia* ocorrentes na Bahia, Brasil. a) *Tillandsia bulbosa* Hook.f. b) *Tillandsia candida* Leme. c) *Tillandsia chapeuensis* Rauh. d) *Tillandsia gardneri* Lindl. e) *Tillandsia geminiflora* Brongn. f) *Tillandsia heubergeri* Ehlers. g) *Tillandsia iassuensis* L.Hrom. & H.Hrom. h) *Tillandsia juncea* (Ruiz & Pav.) Poir. i) *Tillandsia milagrensis*

Leme. j) *Tillandsia pohliana* Mez. k) *Tillandsia polystachia* (L.) L. l) *Tillandsia streptocarpa* Baker. m) *Tillandsia stricta* Sol. n) *Tillandsia tenuifolia* L.

Sistemas reprodutivos

Para a avaliação dos sistemas reprodutivos, foram realizados os seguintes tipos de polinizações intraespecíficas controladas: a) Polinização natural (flores mantidas no campo, sem qualquer manipulação); b) Autopolinização espontânea (flores protegidas sem emasculação); c) Autopolinização artificial (flores polinizadas manualmente com grãos de pólen da mesma flor); d) polinização cruzada (flores emasculadas e posteriormente polinizadas com grãos de pólen provenientes de outra planta da mesma espécie); e) Agamospermia (flores emasculadas sem a deposição de grãos de pólen no estigma).

As polinizações controladas foram realizadas sempre nas primeiras horas da antese (entre 6 e 8h). Para cada tratamento, utilizou-se um número distinto de flores, com número de repetições variando entre 12 e 30, de acordo com disponibilidade floral. Todas as flores foram devidamente etiquetadas com as informações correspondentes a cada tratamento.

As polinizações naturais foram realizadas nos próprios ambientes de coleta. As demais polinizações foram realizadas em ambiente controlado no BGB-Bromélia. As plantas foram monitoradas semanalmente até a formação de frutos e sementes. Os frutos foram coletados antes da deiscência, a fim de determinar o número de sementes e evitar sua dispersão.

Os sistemas reprodutivos foram avaliados com base nos dois índices:

Índice de Autogamia (IA) = frutificação por autopolinização artificial/ frutificação por polinização natural. Valores de IA superiores a 0,30 indicam capacidade de autofecundação (Ramírez; Brito, 1990).

Índice de Autoincompatibilidade (IAI) = frutificação por autopolinização artificial/ frutificação por xenogamia. Valores de IAI inferiores a 0,30 indicam autoincompatibilidade, enquanto valores superiores a 0,30 caracterizam plantas como autocompatíveis ou parcialmente autocompatíveis (AC) (Ramírez; Brito, 1990; Aguilar-Rodríguez et al. 2019).

A eficiência reprodutiva (EF) foi determinada com base na razão entre a porcentagem de frutos formados com sementes provenientes da polinização natural e a porcentagem de frutos com sementes obtidos por polinização cruzada, conforme proposto por Zapata e Arroyo (1978). Um valor de EF próximo de 1 indica alta eficiência reprodutiva, enquanto valores próximos de 0 indicam baixa eficiência.

Desenvolvimento do tubo polínico no pistilo

Cinco pistilos de plantas submetidas a cada tratamento (autopolinização natural, autopolinização artificial, xenogamia e agamospermia) foram coletados 24 horas após a realização das polinizações. Os pistilos foram fixados em solução Carnoy [3 partes de etanol (95%): 1 parte de ácido acético glacial] por 48 horas e, em seguida, clarificados em solução de sulfito de sódio a 10%, previamente autoclavada por 20 minutos a 120 °C, com o objetivo de amolecer e tornar os tecidos mais transparentes.

A coloração foi realizada por meio da imersão, durante 24 horas, em solução de azul de anilina a 0,01% preparada em tampão de fosfato tribásico. A germinação dos grãos de pólen no estigma e o desenvolvimento dos tubos polínicos ao longo do pistilo foram avaliados por microscopia de fluorescência, utilizando filtro ultravioleta, conforme metodologia descrita por Souza et al. (2017).

As lâminas foram analisadas em Microscópio Axioskop2 (Carl Zeiss, Jena, Alemanha) equipado com câmera digital (Olympus DP175, Tokyo, Japão) e filtro ultravioleta para detecção de fluorescência e visualização da calose.

Foram avaliadas quatro variáveis relacionadas à germinação de grãos de pólen e ao crescimento de tubos polínicos no pistilo: *i*) grãos de pólen aderidos à superfície do estigma (GPSE); *ii*) grãos de pólen germinados na superfície do estigma (GPGE); *iii*) crescimento do tubo polínico no pistilo (CTPP); e *iv*) óvulos com tubo polínico penetrado na micrópila (OTPM) (Souza et al., 2017).

Os grãos de pólen aderidos à superfície do estigma (GPSE) e os grãos de pólen germinados na superfície do estigma (GPGE) foram avaliados de acordo com a seguinte escala: 0) ausente; 1) de 1 a 25 grãos de pólen; 2) de 25 a 50 grãos de pólen; 3) mais de 50 grãos de pólen (Souza et al., 2017).

Os óvulos fertilizados (OVFE) foram avaliados de acordo com a escala: 0) ausente; 1) de 1 a 5 óvulos; 2) de 5 a 10 óvulos; 3) mais de 10 óvulos (Souza et al., 2017).

O crescimento do tubo polínico no pistilo (CTPP) foi avaliado conforme adaptação de Souza et al., (2017) com a seguinte escala: 0) grãos de pólen não germinados na superfície do estigma; 1) grãos de pólen germinados na superfície do estigma; 2) tubos polínicos paralisados no primeiro terço do estilete; 3) tubos polínicos paralisados no segundo terço do estilete; 4) tubos polínicos paralisados no terceiro terço do estilete; 5) tubos polínicos na região do ovário; 6) tubo polínico próximo ao óvulo; 7) tubo polínico penetrando na micrópila.

Germinação das sementes

A avaliação da germinação das sementes provenientes dos ensaios de polinizações controladas foi realizada *in vitro*. Para isso, foram utilizadas quatro repetições de 14 sementes por tratamento, distribuídas em placas de Petri contendo meio MS (Murashige; Skoog, 1962) com metade da concentração de sais, suplementado com 3% de sacarose e 0,7% de ágar, ajustado para pH 5,8.

As sementes foram desinfestadas em etanol 70% por 5 minutos, seguidas de imersão em solução de cloro ativo a 1% por 30 minutos, sendo posteriormente enxaguadas três vezes com água destilada estéril.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento por 45 dias, sob temperatura controlada de 27 ± 1 °C, densidade de fluxo de fótons de $30 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas.

As avaliações foram realizadas ao longo de 30 dias, contabilizando-se as sementes germinadas e não germinadas. A emergência do cotilédone foi adotada como critério de germinação, conforme Souza et al. (2021).

A porcentagem de germinação (G%) foi calculada segundo Labouriau e Valadares (1976), pela expressão: $G(\%) = (N/A) \times 100$, em que N é o número de sementes germinadas e A o total de sementes avaliadas.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado de acordo com Maguire (1962), pela fórmula: $IVG = \sum (G_i / N_i)$, onde G_i é o número de sementes germinadas no intervalo i e N_i o número de dias decorridos desde a semeadura até a germinação.

O tempo médio de germinação (TMG) foi calculado conforme Labouriau (1983), pela equação: $TMG = \sum (n_i / t_i) / \sum G_i$, em que n_i é o número de sementes germinadas no tempo t_i (em dias).

O número de sementes e plântulas contaminadas por fungos ou bactérias foi registrado em cada avaliação. A porcentagem de contaminação foi calculada segundo Grattapaglia e Machado (1998), utilizando-se a expressão: Contaminação (%) = (número de sementes ou plântulas contaminadas/ número total de sementes) x 100.

Os dados de porcentagem de germinação, IVG e TMG foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). As porcentagens foram previamente transformadas pela função arco-seno da raiz quadrada ($\sqrt{x/100}$) antes da análise estatística. Todas as análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2024).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sistemas reprodutivos

As polinizações conduzidas nas 14 espécies de *Tillandsia* revelaram ampla variação na frutificação, no número médio de sementes por fruto e nos índices de autogamia e autoincompatibilidade reprodutiva (Tabela 2). De modo geral, observou-se alta formação de frutos nos tratamentos de polinização natural e cruzada, indicando ausência de barreiras pré- e pós-zigóticas que impeçam o sucesso reprodutivo nesses dois sistemas. A polinização natural resultou em percentuais de frutificação que variaram de 57% em *T. chapeuensis* e *T. iassuensis* até 89% em *T. stricta*. Embora o número médio de sementes por fruto tenha sido inferior ao observado na polinização cruzada, manteve-se elevado, indicando a eficiência dos polinizadores locais na manutenção da reprodução dessas espécies. Além de garantir a formação de sementes viáveis, a polinização natural contribui para a colonização de novos micro-habitats e para o fluxo gênico entre populações distintas, fortalecendo a capacidade adaptativa das espécies (Barrett, 2019; Baquero; Amorim, 2021; Nuñez-Hidalgo; Cascante-Marín, 2024).

Os resultados sugerem a presença de polinizadores efetivos nas áreas de ocorrência das espécies analisadas, uma vez que a eficiência reprodutiva variou de 0,59 em *T. chapeuensis* a 0,91 em *T. bulbosa*. Estudos prévios relatam a interação de abelhas, como *Bombus atratus* e *B. morio*, com *T. stricta* e *T. tenuifolia*, atuando como polinizadores eficientes ao transportarem grãos de pólen entre flores de diferentes indivíduos (Morgado; Rocha, 2016; Ramírez; Morillo et al., 2021). Além das abelhas, aves como beija-flores desempenham papel essencial na polinização de Bromeliaceae (Sáyago et al., 2018). Mosti et al. (2013), ao analisarem os nectários de *T. juncea*, observaram estruturas celulares especializadas na secreção de néctar enriquecido em proteínas e lipídios, adaptadas para atrair polinizadores ornitófilos, evidenciando coevolução entre flores e visitantes.

Estudos recentes têm demonstrado que a composição da comunidade de polinizadores pode variar significativamente em resposta ao grau de fragmentação do habitat (Ferrer et al., 2024). Em ambientes mais degradados, observa-se a substituição de polinizadores especialistas por generalistas, o que pode comprometer a eficiência na transferência de grãos de pólen, reduzindo a probabilidade de cruzamentos entre indivíduos geneticamente distintos e, conseqüentemente, afetando a variabilidade genética (Ferrer et al., 2024).

Ainda assim, a manutenção de sistemas reprodutivos mistos, combinando alogamia e autopolinização, tem se mostrado um mecanismo compensatório eficiente em cenários de escassez de polinizadores, garantindo a formação de frutos e a persistência das populações mesmo sob condições ambientais adversas (Nuñez-Hidalgo; Cascante-Marín, 2024).

A diversidade de estratégias de polinização em Bromeliaceae, incluindo melitofilia, ornitofilia, quiropterofilia e entomofilia generalista, está associada a transições ecológicas e morfológicas que favorecem a radiação adaptativa do grupo nos neotrópicos (Kessler et al., 2020; Esposito-Polesi et al., 2023). Em *Tillandsia stricta*, Missagia et al. (2023) compararam a eficiência de beija-flores e borboletas, demonstrando que, embora ambos atuem como visitantes florais, os beija-flores apresentaram maior frequência e eficiência de polinização, resultando em maior produção de sementes por fruto.

Na família Bromeliaceae, coexistem estratégias reprodutivas sexuadas (alogamia, autogamia, cleistogamia) e assexuadas (brotos laterais, estolões, apomixia), que em conjunto conferem resiliência ecológica e capacidade de colonização (Benzing, 2000; Cavalcante et al., 2020; Mota et al., 2023). A reprodução sexuada é crucial para a diversidade genética e a evolução adaptativa, enquanto a assexuada permite rápida expansão local e manutenção de populações mesmo sob escassez de polinizadores. Essa coexistência de estratégias reflete a flexibilidade reprodutiva que possivelmente contribui para o sucesso evolutivo da família (Silva et al., 2025; Souza et al., 2025).

Todas as espécies avaliadas apresentaram capacidade de reprodução alógama (polinização cruzada), embora várias também tenham demonstrado potencial para autopolinização, configurando sistemas reprodutivos mistos. Em *Tillandsia bulbosa*, *T. candida*, *T. geminiflora*, *T. heubergeri*, *T. juncea*, *T. pohliana*, *T. polystachia*, *T. streptocarpa*, *T. stricta* e *T. tenuifolia*, houve formação de frutos e sementes tanto após polinização cruzada quanto após autopolinização artificial, evidenciando a coexistência de alogamia e autogamia. Esse padrão misto é amplamente relatado em Bromeliaceae e é interpretado como uma estratégia adaptativa que aumenta as chances de reprodução em ambientes instáveis ou sob limitação de polinizadores (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023; Mota et al., 2023; Nascimento et al., 2025).

Cascante-Marín e Núñez-Hidalgo (2023) revisaram os sistemas reprodutivos da família e destacaram a elevada frequência de sistemas mistos em Tillandsioideae, observando que espécies com polinização especializada muitas vezes mantêm algum grau de autopolinização como mecanismo de garantia reprodutiva. Em estudo com espécies de

Tillandsia do Chaco brasileiro, Gomes et al. (2020) apontaram que a manutenção de sistemas mistos pode estar associada à ampla distribuição do gênero, permitindo que populações colonizem diferentes micro-habitats e persistam mesmo sob escassez de polinizadores. Além disso, estudos recentes indicam que a expressão de sistemas mistos pode variar intraespecificamente, influenciada por fatores ecológicos e populacionais como densidade de indivíduos, distância entre flores e composição da assembleia de polinizadores (Ramírez et al., 2022; Ferreira et al., 2024).

Nos resultados, mesmo que a autopolinização artificial tenha produzido frutos e sementes em *T. bulbosa*, *T. candida*, *T. geminiflora*, *T. heubergeri*, *T. juncea*, *T. pohliana*, *T. polystachia*, *T. streptocarpa*, *T. stricta* e *T. tenuifolia*, a frutificação e a produção de sementes foram consistentemente superiores em polinização cruzada. Um exemplo é *T. polystachia*, que apresentou 62% de frutificação sob autopolinização artificial, contra 83% em xenogamia (Tabela 2), reforçando a preferência por alogamia nessas espécies.

Para várias espécies, o tratamento de autopolinização espontânea não resultou em frutificação (*T. candida*, *T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. iassuensis*, *T. milagrensis* e *T. tenuifolia*), sugerindo a presença de barreiras à autogamia espontânea. Outras espécies, entretanto, apresentaram valores moderados de frutificação espontânea: *T. polystachia* (55%), *T. pohliana* (60%), *T. heubergeri* (62%), *T. juncea* (65%), *T. bulbosa* e *T. streptocarpa* (66%), *T. stricta* (67%) e *T. geminiflora* (68%).

A polinização cruzada (xenogamia) configurou-se como mecanismo reprodutivo-chave para a maioria das espécies, resultando no maior número de sementes por fruto em comparação aos demais tratamentos. Em algumas espécies, a frutificação sob xenogamia atingiu valores de até 100% (*T. geminiflora*) ou superiores a 90% (*T. bulbosa*, *T. chapeuensis*, *T. juncea*, *T. gardneri*, *T. milagrensis*, *T. stricta* e *T. tenuifolia*). Esses resultados corroboram estudos que apontam a xenogamia como essencial para o fluxo gênico e para a manutenção da variabilidade genética, fatores fundamentais para a adaptação e resiliência populacional (Vosgueritchian; Buzato, 2006; Barrett, 2019; Cavalcante et al., 2020).

Nos resultados obtidos, a produção média de sementes por fruto variou de $92,75 \pm 8,77$ em *T. iassuensis* a $359,4 \pm 12,35$ em *T. polystachia*, reforçando a importância da polinização cruzada para a eficiência reprodutiva dessas espécies.

Nenhuma das espécies de *Tillandsia* estudadas apresentou agamospermia (apomixia) (Tabela 2), consistente com o fato de que a apomixia ocorre em apenas cerca de 15% das

angiospermas (Dall’Agnol; Schifino-Wittmann, 2005). Embora relativamente rara em Bromeliaceae, já foi registrada em espécies de *Aechmea*, como *A. bromeliifolia* e *A. distichantha* (Souza et al., 2017) e mais recentemente em populações de *A. blanchetiana*, sugerindo que sua ocorrência pode estar subestimada na família (Silva et al., 2025). De acordo com Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo (2023), a apomixia completa é mais comum em Pitcairnioideae, evidenciando a elevada plasticidade reprodutiva dessa subfamília.

Tabela 2. Porcentagem de frutos com sementes e número de sementes produzidas em diferentes sistemas reprodutivos de 14 espécies do gênero *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) ocorrentes no estado da Bahia, Brasil.

Espécies	Frutos com sementes*				
	Polinização natural	Autopolinização espontânea	Autopolinização artificial	Xenogamia	Agamospermia
<i>T. bulbosa</i>	(13/15) 86	(10/15) 66	(12/16) 75	(16/17) 94	(0/13) 0
<i>T. candida</i>	(18/25) 72	(0/25) 0	(17/25) 68	(20/25) 80	(0/18) 0
<i>T. chapeuensis</i>	(16/28) 57	(0/28) 0	(0/28) 0	(27/28) 96	(0/15) 0
<i>T. gardneri.</i>	(17/28) 60	(0/30) 0	(0/28) 0	(29/30) 96	(0/26) 0
<i>T. geminiflora</i>	(24/28) 86	(19/28) 68	(24/28) 85	(28/28) 100	(0/18) 0
<i>T. heubergeri</i>	(20/25) 80	(10/16) 62	(19/25) 76	(22/25) 88	(0/16) 0
<i>T. iassuensis</i>	(8/14) 57	(0/12) 0	(0/16) 0	(16/18) 88	(0/10) 0
<i>T. juncea</i>	(15/20) 75	(13/20) 65	(14/19) 73	(23/25) 92	(0/14) 0
<i>T. milagrensis</i>	(15/20) 75	(0/20) 0	(0/20) 0	(18/20) 90	(0/14) 0
<i>T. pohliana</i>	(14/19) 73	(9/15) 60	(13/19) 68	(16/18) 88	(0/12) 0
<i>T. polystachia</i>	(14/22) 63	(10/18) 55	(10/16) 62	(10/12) 83	(0/10) 0
<i>T. streptocarpa</i>	(10/14) 71	(10/15) 66	(7/10) 70	(12/15) 80	(0/10) 0
<i>T. stricta</i>	(925/28) 89	(19/28) 67	(20/28) 71	(26/28) 92	(0/17) 0
<i>T. tenuifolia</i>	(14/20) 70	(0/20) 0	(4/10) 40	(18/20) 90	(0/20) 0
Sementes produzidas**					
<i>T. bulbosa</i>	209,8±17,5 (200/247)	197±11,91 (180/223)	201±2,64 (200/210)	241,2±8,28 (231/255)	0
<i>T. candida</i>	95,2±11,96 (89/125)	0	91,26±3,26 (88/125)	98,34±16,97 (90/154)	0
<i>T. chapeuensis</i>	106,25±17,09 (100/167)	0	0	119,14±27,57 (100/177)	0
<i>T. gardneri.</i>	105,41±13,20 (100/145)	0	0	113,65±21,70 (100/170)	0
<i>T. geminiflora</i>	118,33±9,30 (110/145)	112,63±4,68 (110/119)	115,25±4,01 (110/128)	131,32±21,27 (110/175)	0
<i>T. heubergeri</i>	162,55±4,44 (156/178)	160,93±4,47 (150/164)	161,71±8,48 (156/172)	168,36±12,39 (156/198)	0
<i>T. iassuensis</i>	89,12±6,01 (80/98)	0	0	92,75±8,77 (80/113)	0
<i>T. juncea</i>	312,45±14,26 (300/320)	303,55±2,60 (300/306)	302±6,16 (300/327)	315,5±23,86 (300/360)	0
<i>T. milagrensis</i>	123,45±7,19 (120/145)	0	0	131,65±9,34 (120/146)	0
<i>T. pohliana</i>	213,16±19,08 (200/244)	204,01±11,27 (200/236)	204,22±10,10 (200/238)	221,5±24,57 (200/260)	0
<i>T. polystachia</i>	354,12±7,05 (350/370)	348,09±6,23 (350/347)	349,57±4,78 (350/358)	359,4±12,35 (350/377)	0
<i>T. streptocarpa</i>	179,42±5,82 (180/189)	171,6±4,99 (162/180)	173,8±8,35 (160/182)	181,25±5,64 (178/199)	0
<i>T. stricta</i>	204,92±7,70 (200/220)	199,25±3,86 (188/207)	200,80±5,32 (190/219)	213,69±20,10 (200/248)	0
<i>T. tenuifolia</i>	154,92±4,84 (150/160)	0	152±2,82 (150/156)	159,3±4,01 (150/170)	0
Espécies	Índice				

	IA	IAI	Sistema Reprodutivo	EF
<i>T. bulbosa</i>	0,87	0,79	AC	0,91
<i>T. candida</i>	0,94	0,85	AC	0,90
<i>T. chapeuensis</i>	0,00	0,00	AI	0,59
<i>T. gardneri</i>	0,00	0,00	AI	0,62
<i>T. geminiflora</i>	0,98	0,85	AC	0,86
<i>T. heubergeri</i>	0,95	0,86	AC	0,90
<i>T. iassuensis</i>	0,00	0,00	AI	0,64
<i>T. juncea</i>	0,97	0,79	AC	0,81
<i>T. milagrensis</i>	0,00	0,00	AI	0,83
<i>T. pohliana</i>	0,93	0,77	AC	0,82
<i>T. polystachia</i>	0,98	0,74	AC	0,75
<i>T. streptocarpa</i>	0,98;	0,87	AC	0,88
<i>T. stricta</i>	0,78	0,77	AC	0,86
<i>T. tenuifolia</i>	0,57	0,44	AC	0,77

*(Número de frutos colhidos com sementes/número de polinizações realizadas) Porcentagem de sementes formadas por fruto)

**Valor médio de sementes por fruto $\pm$ desvio padrão.

AI= Índice de autogamia (Autopolinização artificial/Polinização natural); IAI= Índice de autoincompatibilidade (Autopolinização artificial/polinização cruzada). EF= Eficiência reprodutiva (porcentagem de frutos formados a partir de polinização natural/porcentagem de frutos formados a partir de polinização cruzada). IAI= auto- incompatível (IAI inferior a 0,30). AC= autocompatível ou parcialmente autocompatível (IAI superior a 0,30).

Desenvolvimento do tubo polínico no pistilo

A análise do desenvolvimento dos tubos polínicos no pistilo demonstrou diferentes padrões, incluindo mecanismos característicos de autoincompatibilidade que atuam como barreiras pré-zigóticas em espécies de *Tillandsia* (Figura 1). A microscopia de fluorescência evidenciou que, em *T. bulbosa* (Figura 2a), *T. geminiflora*, *T. heubergeri* (Figura 2c), *T. juncea* (Figura 2k), *T. pohliana* (Figura 2m), *T. polystachia*, *T. streptocarpa* (Figura 2i) e *T. stricta* (Figura 2l), a autopolinização espontânea e artificial resultou em abundante deposição de grãos de pólen sobre o estigma, com germinação e crescimento dos tubos polínicos até a micrópila, culminando na fertilização de diversos óvulos (Tabela 3). Esses resultados evidenciam a autocompatibilidade nas espécies analisadas, com elevada eficiência de fertilização mesmo na ausência de polinizadores. Esse padrão já havia sido descrito por Aguilar-Rodríguez et al. (2019) e Gomes et al. (2022), que destacam a plasticidade reprodutiva do gênero e ressaltam que a autocompatibilidade pode representar uma vantagem adaptativa em ambientes com baixa disponibilidade de polinizadores.

Por outro lado, em *T. candida* (Figura 2j) e *T. tenuifolia* (Figura 2g), não foi detectada deposição de grãos de pólen sobre o estigma durante a autopolinização espontânea, mas a autopolinização artificial resultou em elevada taxa de germinação polínica e fecundação, produzindo frutos e sementes viáveis com sucesso reprodutivo próximo a 100% (Tabela 3). Esses resultados classificam ambas como autocompatíveis, embora dependentes da manipulação ou da ação de polinizadores para a deposição dos grãos de pólen (IAI = 0,85 e 0,44, respectivamente).

Esse padrão pode ser explicado pela presença de heterostilia, uma forma de hercogamia que impede o contato direto entre estigma e anteras em flores com estilete longo e estames curtos, como descrito por Barrett (1992, 2019). A heterostilia reforça a necessidade da intervenção de polinizadores para efetivar a transferência dos grãos de pólen, funcionando como barreira mecânica e, ao mesmo tempo, como filtro evolutivo que ajusta a deposição dos grãos de pólen ao comportamento do visitante floral (Webb; Lloyd, 1986; Opedal, 2018; Ferrero et al., 2021). Assim, *T. candida* e *T. tenuifolia* podem ser classificadas como xenógamas facultativas, compatíveis com a autopolinização, mas dependentes de agentes externos para garantir o sucesso reprodutivo (Cruden, 1977).

Resultados semelhantes foram observados em *T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. iassuensis* e *T. milagrensis*. Nelas, a autopolinização espontânea não resultou em deposição de grãos de pólen, enquanto a autopolinização artificial revelou diferentes barreiras pré-

zigóticas: ausência de germinação em *T. chapeuensis* (Figura 2e) e *T. iassuensis* (Figura 2d), paralisação dos tubos polínicos no estilete em *T. gardneri* (Figura 2h) e bloqueio ainda na superfície estigmática em *T. milagrensis* (Figura 2f). Esses eventos confirmam a ocorrência de autoincompatibilidade gametofítica homomórfica, sistema já descrito em *Ananas comosus* e em outras espécies de Bromeliaceae por Brewbaker e Gorrez (1967), Vervaeke et al. (2001) e Souza et al. (2017).

A autoincompatibilidade representa um mecanismo essencial para evitar a depressão endogâmica, promover a alogamia e manter a diversidade genética em populações naturais (Barrett, 2003; Hiscock; Tabah, 2019). Nossos resultados reforçam a importância desse sistema como estratégia adaptativa em ambientes heterogêneos, atuando na regulação do fluxo gênico e na manutenção do potencial evolutivo das populações. Estudos recentes têm demonstrado que a autoincompatibilidade em angiospermas tropicais está frequentemente associada à manutenção da heterozigosidade e ao aumento da resiliência populacional frente às mudanças ambientais (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023; Zhang et al., 2022; Silva et al., 2025).

De acordo com Souza et al. (2021), *T. chapeuensis* e *T. milagrensis* ocorrem fixadas em paredões rochosos de inselbergs, onde, durante o período reprodutivo, atraem diversos polinizadores, principalmente beija-flores. *Tillandsia milagrensis* é endêmica da região de Milagres, Itatim e Iaçu, sendo classificada como “Em Perigo” na Lista Oficial das Espécies Endêmicas Ameaçadas de Extinção do Estado da Bahia (Bahia, 2017; Souza et al., 2021). *Tillandsia chapeuensis*, também endêmica da Bahia, apresenta elevado potencial ornamental, característica que tem incentivado sua coleta extrativista e intensificado as ameaças à sua conservação (Souza et al., 2021). *Tillandsia iassuensis*, por sua vez, foi recentemente descrita como uma espécie endêmica restrita aos inselbergs do município de Iaçu, Bahia (Hromadnik & Hromadnik, 2021).

A ocorrência de autoincompatibilidade em *T. chapeuensis*, *T. iassuensis* e *T. milagrensis*, todas espécies endêmicas e restritas a inselbergs baianos (Tabela 1), sugere que, embora o endemismo seja frequentemente associado à evolução de sistemas autocompatíveis como mecanismo de garantia reprodutiva (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023), a manutenção da autoincompatibilidade pode representar uma estratégia adaptativa voltada à preservação da variabilidade genética e à prevenção da depressão endogâmica em populações pequenas, especialmente isoladas e de baixa conectividade (Barrett, 2019).

Em habitats rupestres, onde as populações tendem a ser espacialmente restritas, porém persistentes ao longo do tempo, a seleção pode favorecer a manutenção de sistemas alógamos dependentes de polinizadores especializados (Nuñez-Hidalgo; Cascante-Marín, 2024). Assim, o padrão observado nessas três espécies reforça a hipótese de que o endemismo nem sempre conduz à quebra da autoincompatibilidade, especialmente quando o fluxo gênico é sustentado por polinizadores eficientes (Ferrer et al., 2024).

Em uma revisão abrangente, Matallana et al. (2010) destacaram que aproximadamente 75% das espécies de Bromeliaceae analisadas apresentavam autocompatibilidade, enquanto os casos de autoincompatibilidade, e, portanto, de dependência absoluta de xenogamia, eram menos frequentes.

No caso da xenogamia, observou-se sucesso em todas as espécies, com tubos polínicos alcançando a micrópila e fertilizando os óvulos (Tabela 3). A elevada eficiência da polinização cruzada confirma a importância dos polinizadores como mediadores da variabilidade genética (Vosgueritchian; Buzato, 2006; Kessler et al., 2020; Esposito-Polesi et al., 2023). Em estudo com *Tillandsia brachycaulos*, *T. dasyliriifolia* e *T. utriculata* no México, verificou-se que a maioria das espécies fosse autocompatível, a produção de frutos era significativamente maior sob polinização cruzada manual, indicando um sistema misto em que a xenogamia potencializa o sucesso reprodutivo (Wolf et al., 2006).

Por fim, não foram observados indícios de agamospermia (apomixia) nas espécies estudadas, confirmando a eficiência da emasculação e sugerindo que, embora a apomixia tenha sido reportada em algumas Bromeliaceae (Souza et al., 2017; Cavalcante et al., 2020), esse mecanismo parece ausente nas *Tillandsia* avaliadas neste estudo.

Em síntese, a coexistência de autocompatibilidade, autoincompatibilidade e xenogamia dentro do gênero *Tillandsia* ressalta a flexibilidade reprodutiva como estratégia adaptativa crucial em ambientes neotropicais. Essa diversidade de sistemas assegura tanto a manutenção demográfica em condições adversas quanto a promoção da variabilidade genética necessária à evolução e à conservação dessas espécies.

Tabela 3. Avaliação da germinação dos grãos de pólen e crescimento do tubo polínico no pistilo em diferentes sistemas reprodutivos de 14 espécies do gênero *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) ocorrentes no estado da Bahia, Brasil.

Espécies	Autopolinização espontânea				Autopolinização artificial			
	GPSE	GPGE	CTPP	OTPM	GPGE	GPGE	CTPP	OTPM
<i>T. bulbosa</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. candida</i>	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. chapeuensis</i>	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. gardneri</i>	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	0 (100%)
<i>T. geminiflora</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. heubergeri</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. iassuensis</i>	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. juncea</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. milagrensis</i>	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	2 (100%)	1 (100%)	0 (100%)
<i>T. pohliana</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. polystachia</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. streptocarpa</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. stricta</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
<i>T. tenuifolia.</i>	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)
Espécies	Xenogamia				Agamospermia			
	GPSE	GPGE	CTPP	OTPM	GPGE	GPGE	CTPP	OTPM
<i>T. bulbosa</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. candida</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. chapeuensis</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. gardneri</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. geminiflora</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. heubergeri</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. iassuensis</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. juncea</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. milagrensis</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. pohliana</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. polystachia</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. streptocarpa</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. stricta.</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
<i>T. tenuifolia</i>	3 (100%)	3 (100%)	7 (100%)	3 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)

GPSE = grãos de pólen aderidos à superfície do estigma; GPGE = grãos de pólen germinando na superfície do estigma foram avaliados de acordo com a escala: 0) nenhum; 1) 1–25 grãos de pólen; 2) 26–50 grãos de pólen; 3) mais de 50 grãos de pólen. CTPP = crescimento do tubo polínico no pistilo foi avaliado de acordo com a escala: 0) grãos de pólen não germinando na superfície do estigma; 1) grãos de pólen germinando na superfície do estigma; 2) tubos polínicos presos no primeiro terço do estilete; 3) tubos polínicos presos no segundo terço do estilete; 4) tubos

polínicos presos no terço final do estilete; 5) tubos polínicos na região do ovário; 6) tubo polínico próximo ao óvulo; 7) tubo polínico penetrando na micrópila. OTPM = óvulos penetrados por um tubo polínico em sua micrópila: 0) nenhum; 1) 1–5 óvulos; 2) 5–10 óvulos; 3) > 10 óvulos.

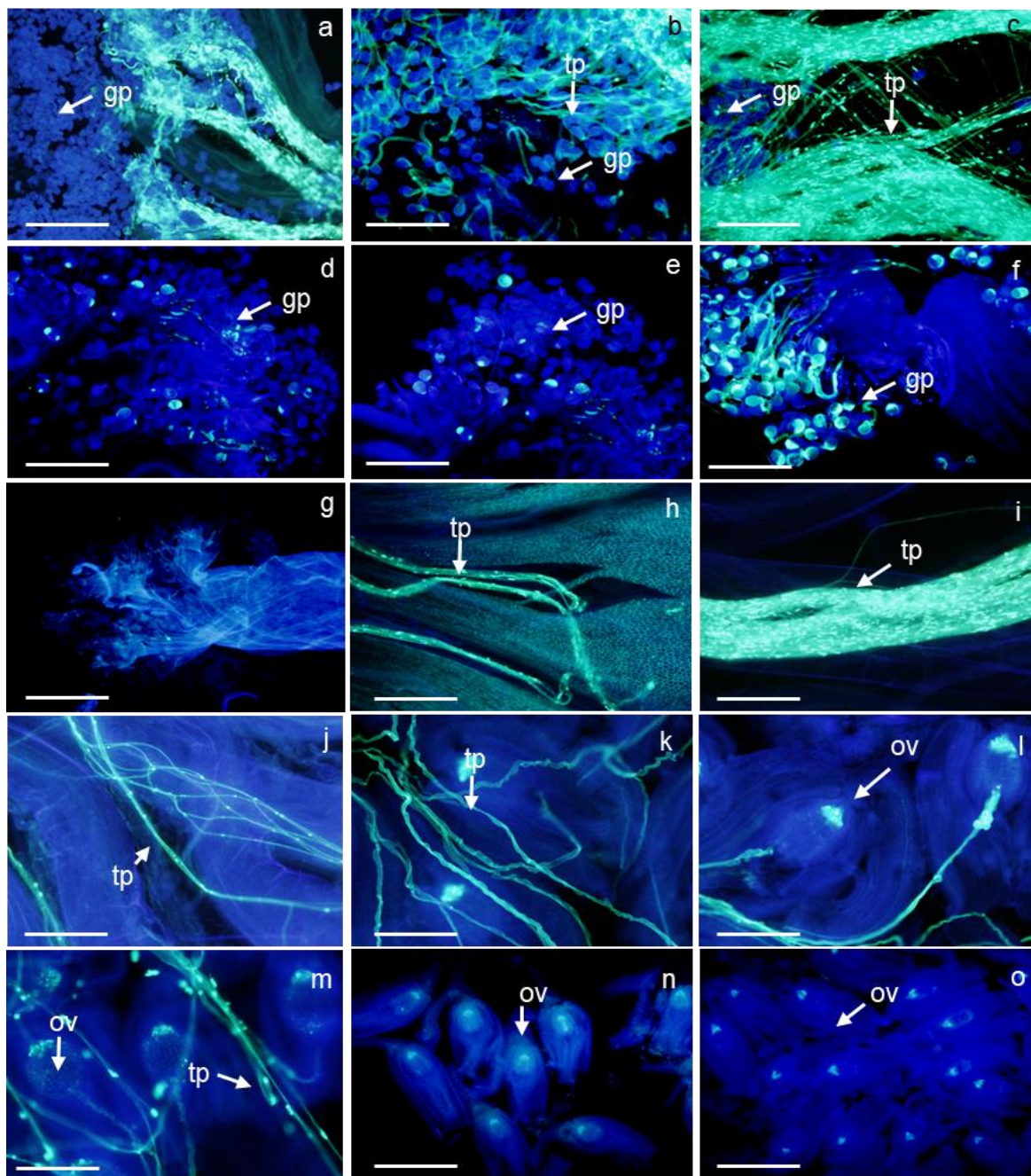


Figura 2. Germinação dos grãos de pólen e crescimento do tubo polínico no pistilo observados através de microscopia de fluorescência, tratados em solução com azul de anilina em diferentes sistemas reprodutivos de espécies do gênero *Tillandsia* L. (Bromeliaceae). a) *T. bulbosa* em autopolinização espontânea, evidenciando a germinação e crescimento dos tubos polínicos no estigma; b) *T. tenuifolia* em autopolinização artificial, evidenciando a germinação e crescimento dos tubos polínicos no estigma; c) *T. heubergeri* em autopolinização artificial, evidenciando a germinação e crescimento dos tubos polínicos no estigma; d) *T. iassuensis* em autopolinização artificial, evidenciando grande deposição de grãos de pólen no estigma sem germinação; e) *T. chapeuensis* em autopolinização artificial, evidenciando grande deposição de grãos de pólen no estigma sem germinação; f) *T. milagrensis* em autopolinização artificial, evidenciando a paralisação dos tubos polínicos dos grãos de pólen germinados no estigma; g) *T. tenuifolia* em autopolinização espontânea, evidenciando o estigma sem deposição de grãos de pólen; h) *T. gardneri* em autopolinização

artificial, evidenciando paralisação dos tubos polínicos no terço inferior do estilete; i) *T. streptocarpa* em xenogamia, evidenciando feixe de tubos polínicos com distribuição regular de calose; j) *T. candida* em autopolinização artificial, evidenciando tubos polínicos com distribuição regular de calose; k) *T. juncea* em autopolinização espontânea, evidenciando o tubo polínico penetrando na micrópila resultando na fertilização; l) *T. stricta* em autopolinização artificial, evidenciando o tubo polínico penetrando na micrópila resultando na fertilização; m) *T. polhiana* em autopolinização artificial, evidenciando o tubo polínico penetrando na micrópila resultando na fertilização; n) *T. chapeuensis* em autopolinização artificial, evidenciando óvulos sem fertilização; o) *T. tenuifolia* em autopolinização espontânea, evidenciando óvulos sem fertilização. gp= grãos de pólen, tp= tubo polínico, ov= óvulo. Barras= 200 μ m.

Germinação das sementes

As espécies estudadas apresentaram altas porcentagens de germinação, superiores a 77% em todos os sistemas reprodutivos avaliados (Tabela 4, Figura 3), indicando a ausência de barreiras pós-zigóticas. Esses resultados reforçam que, após a fecundação, não há limitação para ao desenvolvimento embrionário, confirmando o elevado sucesso reprodutivo das espécies de *Tillandsia*, independente dos sistemas reprodutivos.

Tabela 4. Porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação e tempo médio de germinação de sementes de polinização natural, autopolinização e xenogamia de 14 espécies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) ocorrentes no estado da Bahia, Brasil.

Espécies	Polinização natural				Autopolinização (natural e artificial)				Xenogamia			
	GER (%)	IVG	TMG	CON (%)	GER (%)	IVG	TMG	CON (%)	GER (%)	IVG	TMG	CON (%)
<i>T. bulbosa</i>	90,50 a	0,682 c	20,13 b	0,90	80,50 a	0,564 b	20,21b	0,00	92,00 c	0,700 b	20,09 b	0,40
<i>T. candida</i>	94,00 a	0,844 a	16,10 a	0,00	-	-	-	-	96,00 b	0,876 a	16,07 a	0,00
<i>T. chapeuensis</i>	94,00 a	0,531 d	23,18 c	0,00	-	-	-	-	100,00 a	0,598 c	23,09 c	0,00
<i>T. gardneri</i>	92,25 a	0,781 b	16,15 a	0,00	-	-	-	-	96,00 b	0,833 a	16,11 a	0,00
<i>T. geminiflora</i>	85,25 b	0,681 c	20,14 b	0,00	77,00 b	0,560 b	20,20 b	0,00	94,25 b	0,725 b	20,12 b	1,30
<i>T. heubergeri</i>	85,25 b	0,552 d	23,17 c	0,00	79,00 a	0,487 c	23,22 c	0,00	96,00 b	0,612 c	23,08 c	0,00
<i>T. iassuensis</i>	83,50 b	0,748 b	16,16 a	0,00	-	-	-	-	98,00 a	0,855 a	16,09 a	0,00
<i>T. juncea</i>	90,50 a	0,710 c	20,11 b	0,00	79,00 a	0,581b	20,19 b	0,00	94,25 b	0,756 b	20,08 b	0,00
<i>T. milagrensis</i>	90,50 a	0,545 d	23,18 c	0,00	-	-	-	-	98,00 a	0,608 c	23,09 c	0,00
<i>T. pohliana</i>	94,25 a	0,847 a	16,11 a	0,00	77,00 b	0,613 b	16,24 a	0,00	92,50 c	0,833 a	16,10 a	0,90
<i>T. polystachia</i>	82,00 c	0,652 c	20,15 b	0,00	80,50 a	0,604 b	20,20 b	0,00	98,00 a	0,711 b	20,09 b	0,00
<i>T. streptocarpa</i>	90,25 a	0,559 d	23,17 c	0,00	79,00 a	0,493 c	23,21 c	0,00	94,25 b	0,615 c	23,10 c	0,00
<i>T. stricta</i>	85,00 b	0,746 b	16,18 a	0,50	79,00 a	0,578 b	16,22 a	0,00	96,00 b	0,852 a	16,08 a	0,00
<i>T. tenuifolia</i>	92,00 a	0,673 c	20,12 b	0,00	-	-	-	-	98,00 a	0,729 b	20,09 b	0,00
CV (%)	4,52	15,6	15,0	270,2	1,64	8,04	14,83	-	2,32	13,8	15,0	218,8

GER = Germinação (%); IVG = Índice de Velocidade de Germinação; TMG = Tempo Médio de Germinação em dias; CON = Contaminação por fungo ou bactéria (%). Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente de acordo com o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. IVG (índice de velocidade de germinação) = $\sum(G_i/n_i)$, onde: G_i = número de sementes germinadas e n_i = número de dias até a germinação; e TMG (tempo médio de germinação) = $(\sum G_i/n_i) / \sum G_i$.

A germinação das sementes foi caracterizada pela emergência do cotilédone, padrão já descrito para o gênero por Scatena et al. (2006) e Oliveira et al. (2021). O início da germinação em polinização natural ocorreu a partir do 15º dia após o estabelecimento in vitro em *T. candida*, *T. gardneri*, *T. iassuensis*, *T. pohliana* e *T. stricta*; a partir do 19º dia em *T. bulbosa*, *T. geminiflora*, *T. juncea*, *T. polystachia* e *T. tenuifolia*; e a partir do 22º dia em *T. chapeuensis*, *T. heubergeri*, *T. milagrensis* e *T. streptocarpa* (Tabela 4), o que está em conformidade com a cronologia germinativa descrita para *Tillandsia* (Souza et al., 2021).

Para as sementes oriundas da polinização natural, a germinação variou de 82% em *T. polystachia* a 94,25% em *T. pohliana* (Tabela 4). As espécies *T. candida*, *T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. bulbosa*, *T. juncea*, *T. milagrensis*, *T. streptocarpa* e *T. tenuifolia* não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Scott–Knott ($p < 0,05$), apresentando as maiores porcentagens de germinação, mas diferiram das demais espécies (Tabela 4). Esses resultados indicam que, sob polinização natural, com oferta adequada de polinizadores, as espécies são altamente eficientes na produção de sementes viáveis, sugerindo que o desenvolvimento embrionário e a emergência da plântula ocorrem normalmente após a fecundação (Rocha et al., 2022).

O IVG variou de 0,531 em *T. chapeuensis* a 0,844 em *T. candida*, refletindo diferenças na velocidade de germinação, enquanto o TMG variou de aproximadamente 16 a 23 dias (Tabela 4). Espécies com germinação mais lenta (*T. chapeuensis*, *T. heubergeri*, *T. milagrensis* e *T. streptocarpa*) apresentaram TMG mais elevado, sugerindo que, embora a viabilidade seja alta, podem existir diferenças fisiológicas e morfoanatômicas entre sementes (Rocha et al., 2022).

Dentre as 14 espécies avaliadas, apenas oito produziram sementes nos tratamentos de autopolinização (espontânea e manual); assim, as demais foram excluídas das análises. As médias de germinação variaram entre 77% em *T. geminiflora* e *T. pohliana* e 80,5% em *T. bulbosa* e *T. polystachia* (Tabela 4). O IVG variou de 0,487 em *T. heubergeri* a 0,613 em *T. pohliana*, enquanto o TMG oscilou entre 16,11 dias (*T. pohliana*) e 23,22 dias (*T. heubergeri*) (Tabela 4). Espécies como *T. pohliana*, *T. stricta* e *T. juncea*, destacaram-se pelos maiores IVG (0,58–0,61) e menores TMG (≈ 16 –20 dias), indicando germinação mais rápida e sincronizada, o que sugere boa qualidade fisiológica das sementes mesmo sob autofecundação. Em contraste, *T. heubergeri* e *T. streptocarpa* apresentaram os menores IVG (0,487 e 0,493, respectivamente) e os maiores TMG (~ 23 dias), caracterizando

germinação mais lenta e escalonada, possivelmente associada ao vigor reduzido das sementes derivadas de autopolinização.

As sementes oriundas do tratamento de xenogamia apresentaram elevadas porcentagens de germinação (92–100%), com média geral de 95,7%, indicando elevada viabilidade e ausência de barreiras pós-zigóticas. Esses resultados confirmam que a polinização cruzada favorece a formação de sementes fisiologicamente viáveis e com alto potencial germinativo, reforçando o papel adaptativo da alogamia no gênero. As maiores taxas de germinação foram registradas em *T. chapeuensis* (Tabela 4; Figura 3C–E), *T. iassuensis*, *T. milagrensis* e *T. tenuifolia* (98–100%), seguidas por *T. gardneri*, *T. stricta* e *T. heubergeri* (96%), evidenciando que a xenogamia foi eficiente e uniforme entre espécies. Por outro lado, *T. bulbosa* (92%) e *T. pohliana* (92,5%) apresentaram valores ligeiramente inferiores, mas ainda compatíveis com o padrão de alta germinabilidade característico de *Tillandsia* (Oliveira et al., 2021).

O IVG variou de 0,598 em *T. chapeuensis* a 0,876 em *T. candida*, demonstrando diferenças significativas entre espécies. As espécies com maiores IVG (*T. candida*, *T. gardneri*, *T. pohliana*, *T. stricta* e *T. iassuensis*) apresentaram também os menores TMG ($\approx$ 16 dias), caracterizando germinação mais rápida e sincrônica. Em contraste, espécies como *T. chapeuensis*, *T. heubergeri*, *T. milagrensis* e *T. streptocarpa* exibiram menores IVG (0,60–0,62) e TMG mais elevados ($\sim$ 23 dias), sugerindo germinação mais lenta, compatível com o início mais tardio da germinação observado nessas espécies.

É relevante notar que os valores de TMG foram semelhantes entre os tratamentos para a maioria das espécies, apresentando tempos médios concentrados em torno de 16 ou 23 dias. Esse comportamento sugere que o TMG é pouco sensível ao tipo de fecundação quando as condições in vitro são controladas. Fenômeno semelhante foi relatado em milho submetido a diferentes tratamentos com água magnetizada, no qual o TMG não diferiu entre tratamentos, apesar das variações em germinação e vigor (Ferroni et al., 2023).

Além disso, segundo Finch-Savage e Bassel (2016), quando as sementes apresentam alto vigor, o TMG tende a variar pouco entre tratamentos, pois a maior parte da variabilidade está associada ao subconjunto de sementes de vigor reduzido. Esse mecanismo ajuda a explicar por que, embora nossos resultados revelem diferenças em IVG e porcentagem de germinação entre os sistemas reprodutivos, o TMG permaneceu estável.

Assim, a similaridade no TMG entre tratamentos indica que as sementes avaliadas possuíam vigor suficiente para iniciar a germinação em ritmo uniforme, sendo a

variabilidade observada predominantemente atribuída às características intrínsecas de cada espécie, e não ao modo de polinização. Estudos recentes reforçam que a velocidade e a uniformidade da germinação estão estreitamente relacionadas à qualidade fisiológica das sementes, fator determinante para o estabelecimento das plântulas (Frezato et al., 2021; Souza et al., 2025).

A contaminação foi mínima ($< 1,5\%$) e restrita a poucas espécies, como *T. geminiflora* e *T. pohliana*. A baixa incidência de contaminação sugere que o protocolo de assepsia adotado foi eficiente, garantindo condições adequadas para o estabelecimento das sementes. Esse aspecto é fundamental, considerando que microrganismos associados a sementes podem comprometer não apenas a germinação, mas também a sobrevivência inicial das plântulas em cultivo *in vitro* (Souza et al., 2013; Pérez et al., 2020).

A germinação obtida resultou em plântulas normais e fisiologicamente viáveis, aptas a serem utilizadas em programas de conservação *in vitro*, micropropagação e restauração ambiental. Essa aplicabilidade é particularmente relevante em Bromeliaceae, uma vez que muitas espécies, entre elas *Tillandsia heubergeri* (VU), se encontram sob ameaça segundo o Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFlora, 2024) em função da perda de habitat, fragmentação florestal e pressões antrópicas (Cascante-Marín; Núñez-Hidalgo, 2023; Silva et al., 2025).

Além disso, a associação entre altas taxas de germinação e diversidade de sistemas reprodutivos evidencia que diferentes estratégias sexuais observadas no gênero *Tillandsia* não comprometem a viabilidade das sementes, mas podem atuar como mecanismos complementares de manutenção populacional. Estudos em Bromeliaceae e outras angiospermas tropicais indicam que a combinação de polinização cruzada eficiente e alta porcentagem de germinação das sementes promove não apenas a persistência local, mas também o potencial de colonização de novos habitats, contribuindo para a resiliência ecológica das espécies (Barrett, 2010; Kessler et al., 2020; Esposito-Polesi et al., 2023).

Dessa forma, nossos resultados reforçam a importância da germinação como etapa crítica para a conservação e o manejo reprodutivo em Bromeliaceae, demonstrando que estratégias integradas (incluindo estudos sobre sistemas reprodutivos, germinação e cultivo *in vitro*) podem subsidiar ações efetivas de preservação e uso sustentável dessas espécies.

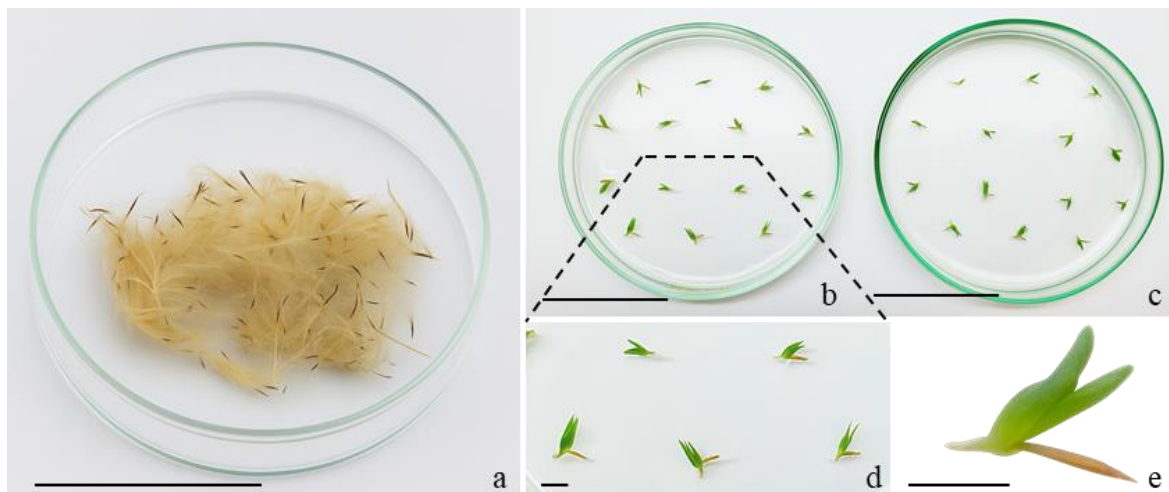


Figura 3. Germinação de sementes de *Tillandsia* oriundas de polinizações controladas. a) Sementes de *T. stricta* em autopolinização espontânea; b) Germinação *in vitro* das sementes de *T. tenuifolia* em polinização cruzada; c) Germinação *in vitro* das sementes de *T. chapeuensis* em polinização cruzada; d) Desenvolvimento inicial de plântulas normais de *T. tenuifolia* em polinização cruzada; e) Desenvolvimento inicial da plântula de *T. tenuifolia*, 3 em polinização cruzada. Barras: a-c) 5 cm; d) 8 mm; e) 5 mm.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que as 14 espécies de *Tillandsia* avaliadas apresentam predominância de alogamia, com polinização cruzada mostrando maior eficiência na formação de frutos e produção de sementes. Dez espécies (*T. bulbosa*, *T. candida*, *T. geminiflora*, *T. heubergeri*, *T. juncea*, *T. pohliana*, *T. polystachia*, *T. streptocarpa*, *T. stricta* e *T. tenuifolia*) apresentaram sistemas reprodutivos mistos, sendo capazes de formar frutos tanto por autopolinização artificial quanto por polinização cruzada, evidenciando autogamia facultativa como mecanismo de garantia reprodutiva. Em contraste, *T. chapeuensis*, *T. gardneri*, *T. iassuensis* e *T. milagrensis* demonstraram autoincompatibilidade gametofítica, caracterizando-se como alógamas obrigatórias. Nenhuma espécie apresentou agamospermia, indicando que a reprodução sexuada é o principal mecanismo de manutenção da diversidade genética no gênero.

O crescimento contínuo do tubo polínico nas espécies autocompatíveis e a interrupção observada nas autoincompatíveis evidenciam a presença de barreiras pré-zigóticas que regulam a autofecundação. A elevada frutificação obtida por polinização cruzada, aliada ao maior número de sementes por fruto, reforça a eficiência reprodutiva da alogamia e sua importância para o fluxo gênico entre populações.

A germinação das sementes foi alta em todas as espécies ($\geq 77\%$), independentemente do sistema reprodutivo, e o vigor das plântulas indicou ausência de barreiras pós-zigóticas significativas. As sementes provenientes de autopolinização exibiram padrões germinativos e vigor semelhantes aos observados em polinização cruzada, sugerindo que a autocompatibilidade não compromete a qualidade fisiológica das sementes.

Esses resultados evidenciam ampla flexibilidade reprodutiva no gênero *Tillandsia*, conferindo resiliência ecológica às populações. A combinação de sistemas mistos e alta viabilidade das sementes fornece subsídios importantes para estratégias de conservação, manejo reprodutivo e programas de restauração ecológica, especialmente para espécies endêmicas e ameaçadas na Bahia.

REFERÊNCIAS

- Aguilar-Rodríguez, P. A.; Macswiney, G.; Ornelas, J. F. Evidence of floral specialization in Bromeliaceae: interactions with vertebrate pollinators in the Neotropics. **Annals of Botany**, v. 123, n. 2, p. 343-356, 2019.
- Andrade, D. S. S.; Souza, E. H.; Costa, E. M. R.; Souza, F. V. D. In vitro conservation of three endemic Bromeliaceae species and reintroduction into their natural habitat. **Journal for Nature Conservation**, v. 84, p. 126839, 2025
- Bahia. Secretaria do Meio Ambiente. **Portaria SEMA nº 40, de 21 de agosto de 2017**. Torna pública a Lista Oficial das Espécies Endêmicas da Flora Ameaçadas de Extinção do Estado da Bahia. Diário Oficial do Estado da Bahia, Salvador, BA, 22 ago. 2017. Disponível em: https://www.ba.gov.br/meioambiente/sites/site-sema/files/migracao_2024/arquivos/File/ListaFlora.docx. Acesso em: 25 jan. 2025.
- Baquero, O. S.; Amorim, D. S. Species interaction networks and conservation of tropical biodiversity. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 19, p. 25-32, 2021.
- Barfuss, M. H. J.; Tillich, H. J.; Manning, J. C.; Zizka, G.; Schultz, J. Taxonomic revision of Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Phytotaxa**, v. 279, p. 001-097, 2016.
- Barrett, S. C. H. Evolutionary transitions between self-compatibility and self-incompatibility in flowering plants. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 374, p. 20180241, 2019.
- Barrett, S. C. H. Plant reproductive systems and their role in evolution under environmental change. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 41, p. 485-507, 2010.
- Barrett, S. C. H. The evolution and function of heterostyly. **Springer-Verlag**, Berlin, 1992.
- Barrett, S. C. H. The evolution of plant reproductive systems: strategies for success. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 2, p. 673-679, 2003.
- Benzing, D. H. **Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- Brewbaker, J. L.; Gorrez, D. D. Genetics of self-incompatibility in pineapple, *Ananas comosus*. **American Journal of Botany**, v. 54, p. 610-616, 1967.
- Cascante-Marín, A.; Núñez-Hidalgo, A. Reproductive ecology of Neotropical Bromeliaceae: diversity of mating systems and implications for conservation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 202, n. 3, p. 450-468, 2023.
- Cavalcante, T. R.; Medeiros, A. C. S.; Souza, E. H.; Pereira, T. N. S. Mating system and reproductive success in Bromeliaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 306, p. 1-15, 2020.

Centro Nacional De Conservação Da Flora (CNCFlora). **Portal CNCFlora**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro; Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/jbrj/pt-br/assuntos/conservacao/cncflora>. Acesso em: 25 jun. 2025.

Cruden, R. W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution**, v. 31, p. 32-46, 1977.

Dall'Agnol, M.; Schifino-Wittmann, M. T. Apomixia em angiospermas e suas implicações evolutivas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 3, p. 477-484, 2005.

Esposito-Polesi, N. P.; Wanderley, M. G. L.; Cavalcante, T. R. Pollination biology and reproductive ecology of Bromeliaceae: recent insights and conservation implications. **Botanical Review**, v. 89, p. 145-168, 2023.

Fagundes, D. P.; Silva, R. A.; Souza, E. H. Advances in pollen conservation in Bromeliaceae: implications for breeding and ex situ conservation. **Plant Cell Reports**, v. 43, p. 123-136, 2024.

Ferreira, G. M. D.; Leme, E. M. C.; Aona, L. Y. S.; Souza, F. V. D.; Moura, H. C. P.; Souza, E. H. Microendemism, high diversity and taxonomic novelties in Bromeliaceae: Studies from an Atlantic Forest hotspot in Bahia, Brazil. **Journal for Nature Conservation**, v. 79, e126599, 2024.

Ferrer, M. M.; Vásquez-Cruz, M.; Verde-Cáceres, M. A.; Magaña-Rosado, U. C.; Good, S. V. The distribution of self-incompatibility systems in angiosperms: the relationship between mating system diversity, life span, growth habit and latitude in a changing global environment. **Annals of Botany**, v. 135, n. 1-2, p. 25-42, 2024.

Ferrero, V.; Chapela, I.; Galetti, M.; Barrett, S. C. H. The ecology and evolution of floral polymorphisms in the tropics. **New Phytologist**, v. 229, n. 5, p. 2562-2578, 2021.

Ferroni, L. M.; Dolz, M. I.; Guerra, M. F.; Makinistian, L. Static magnetic field stimulates growth of maize seeds. **Scientific Reports**, v. 13, art. 4565, 2023.

Finch-Savage, W. E.; Bassel, G. W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 567-591, 2016.

Frezato, J. P.; Oliveira, L. M.; Silva, R. R. Seed viability and germination in Bromeliaceae under controlled conditions. **Seed Science Research**, v. 31, n. 1, p. 35-46, 2021.

Givnish, T. J.; Barfuss, M. H. J.; Van Ee, B.; Riina, R.; Schulte, K.; Horres, R.; Zizka, G.; Kohn, J. R.; Sytsma, K. J. Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 45, p. 517-539, 2007.

Gomes, B. H. S.; Ferreira, B. H. S.; Arakaki, L. M. M.; Sigrist, M. R.; Green, T. F.; Mitsuo, L. M.; Alves, M. A. S. Fenologia reprodutiva de espécies de cactáceas no Chaco

brasileiro: implicações ecológicas e evolutivas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 43, n. 3, p. 517–528, 2020.

Gouda, E. J.; Butcher, D.; Cotton, A. Bromeliad Taxon List (BTL). Utrecht University Botanic Gardens, 2024. Disponível em: <https://bromeliad.nl/bromeliad-taxon-list/>.. Acesso em 20 de ago. 2025.

Grattapaglia, D.; Machado, M. A. T. Micropropagação de plantas lenhosas: fundamentos e aplicações. In: Machado, M. A. T.; Grattapaglia, D. (Ed.). **Micropropagação de plantas lenhosas**. Brasília: Embrapa, 1998. p. 1-10.

Hiscock, S. J.; Tabah, D. A. Self-incompatibility in the Brassicaceae: the evolution of sporophytic mechanisms. **Annals of Botany**, v. 124, p. 13-30, 2019.

Hromadnik, L.; Hromadnik, H. *Tillandsia iassuensis*: uma nova espécie endêmica da aliança de *Tillandsia tenuifolia* da Bahia, Brasil. **Die Bromelie**, v. 71, n. 2, p. 74–83, 2021.

Kessler, M.; Krömer, T.; Gradstein, S. R.; Schulte, K. Reproductive strategies and pollination ecology of Bromeliaceae in tropical montane forests. **Plant Ecology & Diversity**, v. 13, p. 193-210, 2020.

Labouriau, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Washington, 1983.

Labouriau, L. G.; Valadares, M. E. B. On the physiology of seed germination in *Tillandsia*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 48, p. 263-284, 1976.

Leodegario, M. D. M.; Cavalcante, B. P.; Aona, L. Y. S.; Wanderley, M. G. L.; Souza, E. H. D. *Tillandsia itatiensis*: a new species of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, v. 456, n. 2, p. 186-194, 2020.

Leodegario, M. D. M.; Cavalcante, B. P.; Aona, L. Y. S.; Wanderley, M. G. L.; Souza, F. V. D.; Souza, E. H. Unexpected finds in Bahia: first records of five species of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae). **Check List**, v. 17, n. 1, p. 13-20, 2021

Matallana, G.; Silva, K.; Wagner, H. M. Mating system variation in Bromeliaceae. **American Journal of Botany**, v. 97, n. 3, p. 405-414, 2010.

Matallana, G.; Silva, K.; Wagner, H. M. Self-incompatibility and reproductive barriers in Bromeliaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 3, p. 475-488, 2016.

Miller-Rushing, A. J.; Primack, R. B.; Devisser, M. H. Global changes and reproductive phenology of plants. *Science*, v. 365, p. 123-126, 2019.

Missagia, C. C. C.; Mendes, C. J. O.; Alves, M. A. S. Performance of pollinators of the tropical bromeliad *Tillandsia stricta* Sol. (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest, Rio de Janeiro. **Plant Ecology & Diversity**, v. 16, n. 5–6, p. 503–515, 2023.

- Morgado, L. N.; Rocha, F. C. Pollination ecology of *Tillandsia* species in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p. 215-223, 2016.
- Moritz, C. Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 9, p. 373-375, 1994.
- Mosti, S.; Selvi, F.; Casseti, F. Floral nectary ultrastructure of *Tillandsia* species and its relation to pollinator type. *Annals of Botany*, v. 112, p. 1187-1199, 2013.
- Mota, A. C.; Souza, E. H.; Santos, A. V.; Cavalcante, T. R. Breeding systems in Bromeliaceae: new insights from genetic and ecological approaches. **Plant Reproduction**, v. 36, p. 145-159, 2023.
- Murashige, T.; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- Nascimento, R. A.; Pereira, T. N. S.; Souza, E. H. Genetic diversity and reproductive biology of endangered Bromeliaceae. **Journal of Tropical Ecology**, v. 41, p. 87-102, 2025.
- Núñez-Hidalgo, L.; Cascante-Marín, A. Autonomous selfing as reproductive assurance in the epiphytic bromeliad *Aechmea bracteata* in fragmented habitats. **Flora**, v. 305, p. 151057, 2024.
- Oliveira, R. S.; Souza, F. V. D.; Santos, I. L.; Souza, S. O.; Aona, L. Y. S.; Souza, E. H. Cryopreservation and low-temperature storage of seeds of *Tillandsia* species (Bromeliaceae) with ornamental potential. **3 Biotech**, v. 11, n. 4, p. 186, 2021.
- Opedel, O. H. Floral morphology and pollinator-mediated selection in plants. **Ecology Letters**, v. 21, p. 163-176, 2018.
- Paggi, G. M.; Silva, K. S.; Matallana, G. Pollination syndromes in Bromeliaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 179, p. 133-146, 2015.
- Pereira, T. N. S.; Souza, E. H.; Costa, A. F. In vitro germination and conservation of Bromeliaceae seeds. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 79-83, 2008.
- Pérez, F.; Domínguez, C.; Galetto, L. Breeding systems and reproductive ecology of Bromeliaceae in South America. **Plant Biology**, v. 22, p. 457-469, 2020.
- Pontes, R. A. S.; Agra, M. F. Polinização de Bromeliaceae no Brasil: uma síntese. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 225-233, 2006.
- Ramírez, I. M.; Mendes, C. J. O.; Alves, M. A. S. Reproductive biology and pollination ecology of *Tillandsia* species in the Brazilian Chaco. **Acta Botanica Brasilica**, v. 36, n. 2, p. 1-11, 2022.
- Ramírez, N.; Brito, Y. Pollination biology in Venezuelan Bromeliaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 102, p. 145-162, 1990.

Ramírez-Morillo, I. M.; Carrillo-Reyes, P.; Tapia-Muñoz, J. L.; Ramírez-Díaz, C. J. In disentangling two species limits of *Hechtia* (Bromeliaceae: Hechtioideae) from Sierra Madre Occidental, a new species is discovered from Durango, Mexico. **Phytotaxa**, v. 523, n. 1, p. 55-72, 2021.

Rocha, M. A. C.; Souza, E. H.; Soares, T. L.; Souza, F. V. D.; Alfaya, M. C. F.; Costa, M. A. P. C. Comparative seed germination, morphology and post-seminal development of two Bromeliaceae species with ornamental potential. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 44, e58413, 2022.

Sáyago, R.; Quesada, M.; Aguilar, R.; Ashworth, L.; Lópezaraiza-Mikel, M.; Martén-Rodríguez, S. Consequences of habitat fragmentation on the reproductive success of two *Tillandsia* species with contrasting life history strategies. **AoB Plants**, v. 10, p. ply038, 2018.

Scatena, V. L.; Segecin, R.; Menezes, N. L. Seed morphology and germination in *Tillandsia* species. **Rhodora**, v. 108, p. 209-219, 2006.

Silva, R. R.; Nascimento, R. A.; Souza, E. H. Self-incompatibility and conservation genetics in Bromeliaceae. **Plant Reproduction**, v. 38, p. 115-128, 2025.

Sobel, J. M.; Chen, G. F. Unification of methods for estimating reproductive isolation. **Evolution**, v. 68, p. 1511-1522, 2014.

Souza, E. H.; Cavalcante, T. R.; Medeiros, A. C. S.; Pereira, T. N. S. Mating systems and reproductive biology of Bromeliaceae. **Annals of Botany**, v. 119, p. 1-12, 2017.

Souza, E. H.; Mota, A. C.; Cavalcante, T. R. Reproductive barriers and conservation of Brazilian Bromeliaceae. **Journal of Plant Research**, v. 133, p. 145-158, 2020b.

Souza, E. H.; Nascimento, R. A.; Silva, R. R. Conservation genetics and reproductive strategies of Bromeliaceae in fragmented landscapes. **Tropical Conservation Science**, v. 18, p. 1-14, 2025.

Souza, E. H.; Pereira, T. N. S.; Silva, R. R. Ex situ conservation and pollen storage in Bromeliaceae. **Plant Cell Reports**, v. 39, p. 1005-1016, 2020a.

Souza, F. V. D.; Souza, A. S.; Santos-Sereio, J. A.; Souza, E. H.; Junchans, T. G.; Silva, M. J. Micropropagação do Abacaxizeiro e Outras Bromeliáceas. In: Junchans, T. G.; Souza, A. S. (Org.). Aspectos Práticos da Micropropagação de Plantas. 2ed. Brasília: Embrapa, 2013. pp. 189-218

Souza, S. O.; Oliveira, R. S.; Aona, L. Y. S.; Souza, F. V. D.; Soares, T. L.; Rossi, M. L.; Souza, E. H. Pollen morphology and viability of *Tillandsia* (Bromeliaceae) species by light microscopy and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 84, n. 5, p. 441-459, 2021.

- Tardivo, R.C.; Araújo, C.C.; Paixão Souza, B. *Tillandsia* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB6361>>. Accessed on: 04 out. 2025
- Vervaeke, I.; Lambrechts, R.; Smets, E. Self-incompatibility in *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 227, p. 93-102, 2001.
- Vosgueritchian, S.; Buzato, S. Pollination ecology and reproductive success of Bromeliaceae in the Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 4, p. 655-665, 2006.
- Webb, C. J.; Lloyd, D. G. Heterostyly, pollination ecology, and floral morphology. **Evolutionary Biology**, v. 20, p. 151-178, 1986.
- Wendt, T.; Canela, M. B. F.; Klein, D. E.; Rachid, C. Self-compatibility and life-history evolution in Bromeliaceae. **American Journal of Botany**, v. 89, p. 635-646, 2002.
- Wolf, J. H. D.; Gómez, M. J.; Rivera, G.; Gómez, J. M.; Ramírez, M. I. Reproductive biology of six species of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) in Mexico. **Plant Biology**, v. 8, n. 3, p. 347–355, 2006.
- Wolowski, M.; Giuliatti, A. M.; Lemos-Filho, J. P. Breeding systems in Bromelioideae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 172, n. 2, p. 149-160, 2013.
- Zapata, T. R.; Arroyo, M. T. K. Plant reproductive biology of Andean Bromeliaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 129, p. 319-334, 1978.
- Zhang, Y.; LI, X.; Wang, Q. Molecular mechanisms of self-incompatibility in flowering plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 73, p. 556-570, 2022.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese abordou aspectos essenciais da conservação de grãos de pólen e da biologia reprodutiva em espécies de Bromeliaceae, com ênfase nos gêneros *Lymania* e *Tillandsia*. No primeiro capítulo, avaliou-se a viabilidade de grãos de pólen de oito espécies de *Lymania* submetidos ao armazenamento em freezer (-5 °C) e à criopreservação em nitrogênio líquido (-196 °C). No segundo capítulo, investigaram-se os sistemas reprodutivos de 14 espécies de *Tillandsia* que ocorrem na Bahia, por meio de polinizações controladas, análise do crescimento do tubo polínico no pistilo utilizando microscopia de fluorescência, além da avaliação da viabilidade das sementes formadas via germinação *in vitro*. Em conjunto, os dois capítulos contribuem substancialmente para o avanço do conhecimento sobre criopreservação de pólen e reprodução em Bromeliaceae, fornecendo bases científicas relevantes para conservação genética e manejo reprodutivo.

O estabelecimento de um criobanco com as oito espécies de *Lymania* representa um avanço estratégico para a preservação de sua diversidade genética, especialmente em táxons ameaçados ou de distribuição restrita. A criopreservação em nitrogênio líquido, precedida por três horas de desidratação das anteras em sílica gel até atingir cerca de 30% de teor de água, mostrou-se uma técnica eficiente e segura para a conservação de longo prazo, mantendo elevada viabilidade e funcionalidade dos grãos de pólen por pelo menos 365 dias. Por outro lado, o armazenamento em freezer a -5 °C revelou-se inadequado. Esses resultados fortalecem ações de conservação *ex situ*, além de favorecerem programas de melhoramento e polinizações controladas em situações de floração assíncrona.

Para as 14 espécies de *Tillandsia* estudadas, verificou-se predominância de sistemas reprodutivos mistos, com capacidade de autopolinização artificial e polinização cruzada, caracterizando autogamia facultativa. Quatro espécies apresentaram autoincompatibilidade, reproduzindo-se exclusivamente via alogamia. A ausência de agamospermia e a elevada germinação das sementes (>77%) sugerem inexistência de barreiras pós-zigóticas relevantes, permitindo o desenvolvimento embrionário normal e indicando elevada eficiência reprodutiva no grupo.

De maneira integrada, os resultados desta tese demonstram estratégias robustas para a conservação *ex situ* de Bromeliaceae, especialmente de espécies endêmicas e ameaçadas. A associação entre criopreservação de grãos de pólen, caracterização de sistemas reprodutivos e avaliação da germinação de sementes constitui uma base sólida para programas de conservação genética e ações de manejo populacional, reforçando a

importância de abordagens multidisciplinares na proteção e recuperação de espécies vulneráveis.