



Universidade Federal de Uberlândia



Instituto de Biologia

**Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação
de Recursos Naturais**

**Ecologia de espécies poliembriônicas com
ênfase no Bioma Cerrado**

Clesnan Mendes-Rodrigues

2010

Clesnan Mendes-Rodrigues

**Ecologia de espécies poliembriônicas com
ênfase no Bioma Cerrado**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

UBERLÂNDIA - MG

Agosto de 2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- M538e Mendes-Rodrigues, Clesnan, 1978-
Ecologia de espécies poliembriônicas com ênfase no bioma cerrado
[manuscrito] / Clesnan Mendes-Rodrigues. - 2010.
228 f. : il.
Orientador: Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.
Inclui bibliografia.
1. Plantas - Reprodução - Teses. 2. Ecologia do cerrado - Teses. I.
Oliveira, Paulo Eugênio Alves Macedo de. II. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de
Recursos Naturais. III. Título

CDU: 581.16


Clesnan Mendes-Rodrigues

Ecologia de espécies poliembriônicas com ênfase no Bioma Cerrado.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Aprovada em 25 de agosto de 2010.

Prof. Dr. Augusto César Franco
Universidade de Brasília



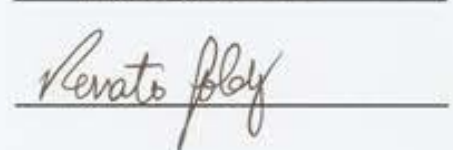
Prof. Dr. Marli Aparecida Ranal
Universidade Federal de Uberlândia



Prof. Dra. Renata Carmo Oliveira
Universidade Federal de Uberlândia



Prof. Dr. Renato Goldenberg
Universidade Federal do Paraná



Prof. Dr. Eduardo Leite Borba
Universidade Federal de Minas Gerais
(Suplente)

Prof. Dra. Julia Yamgishi-Costa
Universidade Federal de Uberlândia
(Suplente)




Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira
Universidade Federal de Uberlândia
(Orientador)

UBERLÂNDIA - MG
Agosto de 2010

Dedico esta à ...

Aquela que além da vida me deu seu suor, seu afago e o incentivo necessários.

Minha mãe, Juliana.

Em verdade, em verdade vos digo: Se o grão de trigo que cai na terra não morre, ele continua só um grão de trigo; mas, se morre, então produz muito fruto.

(João 12, 24)

Agradecimentos

Agradeço e dedico esta Tese a minha mãe Juliana, que desde o meu primeiro dia de graduação, ou talvez, não melhor desde o primeiro dia de escola, lá no pré-escolar, deu seu suor e foi aquela de mais me incentivou para que eu finalizasse toda a minha formação. Nos momentos bons, difíceis, quaisquer que fossem eles seu apoio foi fator único e primordial para que eu passasse por todos os percalços. Sem ela essa tese e outras conquistas nesse período não seriam alcançadas.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Paulo Eugênio, pela orientação nesses mais de 10 anos, pela compreensão das minhas escolhas as vezes, por algumas óticas, conflitantes com a Biologia, pelo aprendizado e exemplo de pesquisador e orientador.

Agradeço à minha família que me acolhe em todos os momentos. Agradeço ao meu pai Iraci, meus irmãos Clélia, Clêdines e Clesmark, meus sobrinhos Fábio, Juliana, Windsor, Jeferson, Ketlen e Yasmin; e a Osvaldo e Lúcia.

Às Profa. Marli Ranal e Denise Garcia de Santana que foram importantes na minha formação pessoal e profissional e pelos muitos momentos de discussão dos meus dados, pelas discussões estatísticas e pela oportunidade dos trabalhos em colaboração.

As professoras Renata Carmo Oliveira, Júlia Yamagishi-Costa pelo auxílio durante a execução da tese.

Aos membros da banca, Augusto César Franco, Eduardo Leite Borba, Julia Yamagishi Costa, Marli Aparecida Ranal, Renata Carmo Oliviera, Renato Goldenberg pelo aceite em participar dessa defesa.

A todos os professores de quem fui aluno, pelo conhecimento compartilhado e pelos exemplos dados durante minha formação.

Ao integrantes do Laboratório de Conservação Genética de Espécies Arbóreas da Universidade Federal de Lavras, nominalmente a Dulcinéia de Carvalho e a Fabio de Almeida Vieira pela recepção e auxílio na execução dos testes de RAPD.

Aos colegas e amigos do LAMОВI, pelos momentos inesquecíveis.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal.

Aos participantes do Laboratório de Ecologia Vegetal, nominalmente a Ivan Schiavinni, pela colaboração no fornecimento de sementes para o estudo.

Aos colegas e aos amigos de outros laboratórios, pelo auxílio em diversos momentos.

Nominalmente a Ana Paula Caetano, Ana Paula Milla dos Santos, Diana Salles Sampaio, Elisângela Rodrigues Figueira, Felipe Wanderley Amorim, Francielle Paulina de Araújo, Luciana Nascimento Custódio, Marcela Yamamoto, Marieta Caixeta Dorneles, Pietro Kiyoshi Maruyama, Rafaela Cabral Marinho, Rivanne Neumann Simão, Thamy Santos Ribeiro. A Rodrigo Lemes Martins, por ter me apresentado as *Eriothecas*.

Agradeço aos amigos da Sala de Emergência de Clínica Médica, a Gerência de Enfermagem do Pronto Socorro e seus Enfermeiros, a Diretoria de Enfermagem e ao Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia pelo apoio e compreensão na facilitação da execução desta tese. E a todos os colegas do Hospital de Clínicas pela compreensão e pelo apoio durante a execução da tese e pela facilitação das “coletas de sementinhas”. Obrigado por entender que até as sementes precisam de cuidados.

Agradecimentos a Associação Mineira de Pais e Amigos de Gaucher, nominalmente a Marcia e Tânia pelo apoio e conquistas para o grupo, aos amigos da Genzyme pelo apoio indireto e muitas vezes presente.

A Rosana Romero pelo auxílio na coleta e identificação das espécies de Melastomataceae e a Vera Lúcia Campos Martins pelo auxílio na identificação das espécies de *Eriotheca*.

Agradeço à CAPES e a FAPEMIG, pelo auxílio financeiro obtido pela aprovação dos projetos de pesquisa a que estou vinculado.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, ao Instituto de Biologia e a Universidade Federal de Uberlândia pela estrutura e pelo apoio no desenvolvimento do trabalho.

Índice Geral:

	página
Folha de rosto	ii
Página de aprovação	iii
Dedicatória	iv
Agradecimentos	v
Índice Geral	vii
Índice Capítulos	viii
Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xiv
Resumo	xviii
Abstract	xix
Introdução Geral	1
Capítulos 1	8
Capítulos 2	53
Capítulos 3	80
Capítulos 4	106
Capítulos 5	146
Capítulos 6	176
Considerações finais	224

Índice Capítulos:

Introdução Geral: O bioma Cerrado como modelo para estudos de espécies poliembriônicas	1
Introdução	1
Objetivos da tese	3
Estrutura da Tese	4
Referências Bibliográficas	6
Capítulo 1: Caracterização e classificação de espécies apomíticas e poliembriônicas	8
Introdução	9
Apomixia	11
Poliembrionia	16
Classificação da Poliembrionia	22
Ecologia da Poliembrionia	30
Referências Bibliográficas	43
Capítulo 2: Frequência de poliembrionia em espécies do bioma Cerrado	53
Introdução	54
Material e Métodos	55
Resultados	58
Discussão	66
Referências Bibliográficas	70

Capítulo 3: Polyembryony in Melastomataceae from Cerrado: multiples embryos in one small world	80
Introdução	82
Material e Métodos	83
Resultados	87
Discussão	94
Referências Bibliográficas	99
Capítulo 4: Mosaicos reprodutivos em duas espécies de <i>Eriotheca</i> (Bombacoideae, Malvaceae): reprodução sexual versus apomixia	106
Introdução	107
Material e Métodos	109
Resultados	115
Discussão	130
Referências Bibliográficas	138
Capítulo 5: Can polyembryony affect seed germination and seedling development in <i>Eriotheca pubescens</i> (Malvaceae – Bombacoideae)	146
Introdução	149
Material e Métodos	151
Resultados	156
Discussão	164
Referências Bibliográficas	169

Capítulo 6: Como a poliembrionia afeta embriões e plântulas de <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Bignoniaceae)?	176
Introdução	177
Material e Métodos	179
Resultados	187
Discussão	209
Referências Bibliográficas	215

Lista de Figuras

(títulos resumidos)

Capítulo 1: Caracterização e classificação de espécies apomíticas e poliembriônicas

Figura 1 Modelo proposto para a alocação de massa entre sementes e embriões de espécies poliembriônicas. **pág. 33**

Figura 2 Modelo proposto para o padrão de sobrevivência de sementes e plântulas de espécies poliembriônicas. **pág. 39**

Capítulo 2: Frequência de poliembrionia em espécies do bioma Cerrado

Figura 1 Frequência de espécies monoembriônicas e poliembriônicas; e média da Porcentagem de sementes poliembriônicas para espécies amostradas no Bioma Cerrado apresentando diferentes sistemas reprodutivos. **pág. 65**

Capítulo 3: Polyembryony in Melastomataceae: multiples embryos in one small world

Figura 1 Some gemelar seedlings found in survey analyses for polyembryony in Melastomataceae from Cerrado Biome. **pág. 93**

Figura 2 Frequency of polyembryony and monoembryony in species of Melastomataceae sampled in Cerrado biome. **pág. 94**

**Capítulo 4: Mosaicos reprodutivos em *Eriotheca* (Bombacoideae, Malvaceae):
reprodução sexual versus apomixia**

- Figura 1** Caracterização de espécies de *Eriotheca* com diferentes padrões de poliembrionia. **pág. 117**
- Figura 2** Padrão de variabilidade intra-específica no número médio de embriões por sementes de duas espécies poliembrionicas de *Eriotheca*. **pág. 119**
- Figura 3** Frequência Relativa Corrigida do número de sementes em diferentes classes embriônicas em indivíduos poliembrionicos de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes*. **pág. 121**
- Figura 4** Padrão de distribuição geográfica de indivíduos monoembriônicos e poliembrionicos de duas espécies de *Eriotheca*. **pág. 122**
- Figura 5** Análise de agrupamento pelo método UPGMA de espécies de Bombacoideae com diferentes padrões de embrionia, em função da morfologia do fruto. **pág. 125**
- Figura 6** Análise de agrupamento pelo método UPGMA a partir do Índice de Jaccard, para progênies de *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens*, com diferentes padrões de embrionia, em função de marcadores RAPD. **pág. 127**
- Figura 7** Placas metafásicas mitóticas obtidas a partir de ponta de radículas de espécies de Bombacoideae com diferentes padrões de embrionia. **pág. 129**

**Capítulo 5: Can polyembryony affect seed germination and seedling development in
Eriotheca pubescens (Malvaceae – Bombacoideae)?**

- Figura 1** Initial growth of seedlings originated from monoembryonic and polyembryonic embryonic patterns of two species of *Eriotheca* **pág. 163**

Capítulo 6: Como a poliembrião afeta embriões e plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae)?

- Figura 1** Proposta de modelo experimental adotado em *Handroanthus chrysotrichus* para a avaliação do crescimento de plântulas gemelares **pág. 185**
- Figura 2** Frequência relativa do número de embriões e plântulas por semente em *Handroanthus chrysotrichus* **pág. 191**
- Figura 3** Média da massa embrionária e massa individual de embriões amostrados em função do número do número de embriões produzido por semente de *Handroanthus chrysotrichus* **pág. 192**
- Figura 4** Mortalidade de sementes e plântulas gemelares, após 44 dias de semeadura de *Handroanthus chrysotrichus* **pág. 193**
- Figura 5** Massa média aérea, subterrânea e total produzidas por semente e por plântula gemelar de *Handroanthus chrysotrichus* **pág. 196**
- Figura 6** Relação entre a massa aérea, subterrânea e total de plântulas gemelares com suas respectivas taxas de crescimento relativo em *Handroanthus chrysotrichus* **pág. 208**

Lista de Tabelas

(títulos resumidos)

Capítulo 1: Caracterização e classificação de espécies apomíticas e poliembriônicas

Tabela 1 Sistema de classificação de espécies apomíticas em função da origem dos embriões. **pág. 12**

Tabela 2 Sistema de classificação de espécies poliembriônicas em função da origem dos embriões e de sua identidade genética e frequência. **pág. 23**

Capítulo 2: Frequência de poliembrionia em espécies do bioma Cerrado

Tabela 1 Espécies do bioma Cerrado amostradas por Salomão & Allem (2001) para a ocorrência de poliembrionia. **pág. 61**

Tabela 2 Frequência de espécies poliembriônicas no Bioma Cerrado. **pág. 63**

Tabela 3 Sistema reprodutivo para algumas das espécies do Bioma Cerrado amostradas para a presença de poliembrionia. **pág. 64**

Capítulo 3: Polyembryony in Melastomataceae: multiples embryos in one small world

Tabela 1 Species of Melastomataceae evaluated to the presence and the frequency of polyembryony in Cerrado Biome **pág. 86**

Tabela 2 Mean embryo number per seed for polyembryonic species of Melastomataceae and de frequency of seeds with polyembryony sampled in Cerrado Biome **pág. 90**

Tabela 3 Monoembryonics species of Melastomataceae in Cerrado Biome **pág. 91**

Tabela 4 Relative frequency (%) of seeds with different number of embryos per seed of Melastomataceae in Cerrado Biome **pág. 92**

**Capítulo 4: Mosaicos reprodutivos em *Eriotheca* (Bombacoideae, Malvaceae):
reprodução sexual versus apomixia**

Tabela 1 Avaliação do número de embriões por semente em espécies poliembrionicas de *Eriotheca* em função da espécie e do ano de coleta **pág. 118**

Tabela 2 Número de sementes avaliadas para verificação de poliembrionia em espécies de Bombacoideae, com padrão monoembriônico, em função da espécie e do ano de coleta. **pág. 120**

Tabela 3 Biometria de frutos de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* com diferentes padrões de embrionia. **pág. 124**

Tabela 4 Porcentagem de formação de frutos para tratamentos de polinização em *Eriotheca* spp. com padrões embriônicos contrastantes **pág. 126**

Tabela 5 Números cromossômicos obtidos a partir de metáfases em ponta de radículas para espécies de Bombacoideae com diferentes padrões de embrionia **pág. 128**

Capítulo 5: Can polyembryony affect seed germination and seedling development in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae – Bombacoideae)?

Tabela 1 Germination measurements of seeds of two *Eriotheca* species from individuals with or without polyembryony. **pág. 157**

Tabela 2 Emergence measurements of seedlings of *Eriotheca pubescens* from individuals with or without polyembryony. **pág. 159**

Tabela 3 Biometry and allocation of dry matter of gemelar seedlings of *Eriotheca pubescens*. **pág. 160**

Tabela 4 Analysis of linear regression of the biometry of seedlings of *Eriotheca pubescens* with different competition levels. **pág. 161**

Capítulo 6: Como a poliembrionia afeta embriões e plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae)?

- Tabela 1** Medidas de germinação e emergência de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus*. **pág. 188**
- Tabela 2** Medidas de emergência de sementes classificadas em função do número de plântulas gemelares produzidas por semente de *Handroanthus chrysotrichus*. **pág. 189**
- Tabela 3** Amostragem da poliembrionia em *Handroanthus chrysotrichus* a partir de diferentes indivíduos e de dois métodos de amostragem de poliembrionia: dissecação e emergência. **pág. 190**
- Tabela 4** Biometria de plântulas gemelares oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* cultivadas por 54 dias. **pág. 194**
- Tabela 5** Intensidade da competição, obtidos por análise de regressão, entre plântulas oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* cultivadas por 54 dias. **pág. 195**
- Tabela 6** Análise de regressão, independente da classe embriônica, para a estimativa da massa aérea, subterrânea e total em mg de plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* cultivadas por 54 dias. **pág. 198**
- Tabela 7** Comparações entre os valores médios da massa aérea, subterrânea e total de plântulas gemelares de *Handroanthus chrysotrichus* com 54 dias de semeadura, comparadas aos valores médios estimados a partir de regressões lineares com uso das medidas originais das plântulas, independente da classe embriônica. **pág. 199**
- Tabela 8** Análise de regressão para a estimativa da massa aérea em mg de plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* cultivadas por 54 dias; obtidas para diferentes classes embriônicas. **pág. 200**

- Tabela 9** Análise de regressão para a estimativa da massa subterrânea em mg de plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* cultivadas por 54 dias; obtidas para diferentes classes embriônicas **pág. 201**
- Tabela 10** Análise de regressão para a estimativa da massa total em mg de plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* cultivadas por 54; obtidas para diferentes classes embriônicas. **pág. 202**
- Tabela 11** Biometria de plântulas oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus*, submetidas a diferentes tratamentos de manipulação de competição, cultivadas por 124 dias **pág. 205**
- Tabela 12** Efeito dos tratamentos de densidade e de tipo de competição sobre a biometria de plântulas gemelares oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* cultivadas por 124 dias **pág. 206**
- Tabela 13** Indicadores de intensidade de competição, obtidos a partir de regressões lineares, em função do número de plântulas por semente para diferentes tratamentos de competição de plântulas gemelares oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* **pág. 207**

RESUMO:

Mendes-Rodrigues, Clesnan; 2005. Ecologia de espécies poliembriônicas com ênfase no Bioma Cerrado. Tese de Doutorado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia – Minas Gerais. 228 p.

A ocorrência de mais de um embrião por semente, conhecida como poliembria, e a reprodução assexuada via semente, conhecida como apomixia, são processos comumente associados. Os registros e a importância destes eventos vêm aumentando nas últimas décadas, tanto entre as Angiospermas como em todo quanto em biomas como o Cerrado, reconhecido como um bioma onde a reprodução sexuada é predominante. Apesar destes registros, existem ainda poucas informações sobre a ecologia das sementes poliembriônicas. Nesse cenário, objetivou-se confirmar a poliembria como indicador de apomixia em espécies arbóreas e arbustivas de Cerrado e, a partir de estudos alocação de recursos entre embriões, de germinação de sementes, emergência e crescimento de plântulas, tentar definir quais são as vantagens e desvantagens da poliembria para a ecologia das espécies. De um total de 132 espécies amostradas, 30,30% apresentaram poliembria, embora somente 6,82% apresentem porcentagens de sementes poliembriônicas acima de 5% e sejam mais diretamente associadas a presença de apomixia. Entre as melastomataceas, uma família característica dos Neotrópicos e muito bem representada no Cerrado, 33,96% das espécies apresentam poliembria, com predominância em espécies da tribo Miconieae. Nos dois grupos amostrados, a poliembria foi associada à espécies apomíticas, poliplóides e com amplo padrão de distribuição, mas entre as Melastomataceae, a apomixia nem sempre estava associada a frequências altas de poliembria. Estudos mais específicos com espécies de *Eriotheca* (Malvaceae-Bombacoideae) mostraram a ocorrência de mosaicos de populações monoembriônicas e poliembriônicas em *E. gracilipes* e *E. pubescens*, com diferenças na ecologia dos diferentes tipos de populações. A poliembria afetou pouco a germinabilidade e emergência das sementes, mas produziu um processo menos homogêneo que aquele das sementes monoembriônicas. Os estudos de alocação mostraram que a massa dos embriões diminuiu com o número de embriões por semente, fator que se repetiu com a massa individual de cada plântula. Estas diferenças de alocação reduziram a capacidade de sobrevivência das plântulas de sementes poliembriônicas, mas de uma maneira geral, aumentaram as possibilidades de sobrevivência de alguma das plântulas destas sementes. Em *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) algumas das vantagens da poliembria como a ocorrência de allee effect e bet hedging puderam ser avaliadas experimentalmente. A poliembria foi fortemente correlacionada com a presença de apomixia e os resultados mostram que a presença de poliembria e apomixia podem ser fatores importantes para a persistência e distribuição de espécies no Bioma Cerrado.

Palavras chaves: apomixia, poliembria, germinação de sementes, plântulas gemelares, Bignoniaceae, Bombacaceae, Bombacoideae, Malvaceae e Melastomataceae.

ABSTRACT:

Mendes-Rodrigues, Clesnan; 2010. Ecology of polyembryonic species with emphasis in Cerrado Biome. PhD. Thesis. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia - Minas Gerais, Brazil. 228 p.

The of more than an embryo per seed, known as polyembryony, and the asexual reproduction via seed, known as apomixis, are usually associated. The records and importance of these events have increased in the last decades both for the Angiosperms as a whole and for specific biomes, as the Cerrado, where sexual reproduction is predominant. Despite these records, information on the ecology of polyembryonic seeds is still lacking. In this scenario, we aimed to confirm polyembryony as an indicator of apomixes in woody species of Cerrado and, based on studies of embryo resource allocation, seed germination, emergency and seedling growth, try to define the advantages and disadvantages of polyembryony for the ecology of these species. Out of a 132 species sample, 30.30% presented polyembryony, although only 6.82% did have the percentage of polyembryonic seeds above 5% and were more readily associated with apomixes. Among the Melastomataceae, a characteristic Neotropical family very well represented in the Cerrado, 33.96% of the species presented polyembryony, which predominated in the tribe Miconieae. Both in the Cerrado as a whole and in the Melastomataceae in particular, the polyembryony was associated with apomixes, but in the later, the apomixes was less often associated to higher frequencies of polyembryony. More specific studies with species of *Eriotheca* (Malvaceae-Bombacoideae) showed mosaics of monoembryonic and polyembryonic populations in *E. gracilipes* and *E. pubescens*, with ecological differences between either types of population. Polyembryony did not affected markedly seed germinability and seedling emergence, but resulted in less homogeneous processes than the one found in monoembryonic seeds. Resource allocation studies showed that both embryo and seedling mass decreased with the number of embryos or seedling per seed. These differences reduced the survival ability of seedlings emerging from polyembryonic seeds but, on the other hand, increased the survival chances of at least one of the seedlings from these seeds (seed individual survival). In *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), some of the putative advantages of polyembryony, as allee effect and bet hedging could be experimentally evaluated. Polyembryony was clearly correlated with the occurrence of apomixis and the results presented here showed that both processes can be important factors for the persistence and distribution of plant species in the Cerrado Biome.

Key words: apomixis, polyembryony, seed germination, gemelar seedlings, Bignoniaceae, Bombacaceae, Bombacoideae, Malvaceae e Melastomataceae.

Introdução geral

O bioma Cerrado como modelo para estudos de espécies poliembriônicas

Introdução

O bioma Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, com dois milhões de Km² amplamente distribuídos no Brasil Central e apresenta precipitação média variando de 800 a 2000 mm, com duas estações bem definidas, uma estação seca (abril a setembro) e uma estação úmida (outubro a março), atualmente com 35% da sua área natural já destruída por atividades antrópicas (Ratter *et al.* 1997). O cerrado é caracterizado pela ocorrência de solos distróficos, com baixa disponibilidade hídrica nas camadas superficiais, freqüente ocorrência de fogo na estação seca devido ao acúmulo de biomassa e grande variedade de fitofisionomias (Walter *et al.* 2008).

Avaliações dos tipos de sistemas reprodutivos em espécies de cerrado têm demonstrado a predominância de sistemas sexuais de reprodução (Saraiva *et al.* 1996, Oliveira & Gibbs 2000, Barbosa & Sazima 2008) embora nenhum dos trabalhos tenha realizado testes específicos para a ocorrência de reprodução assexuada via semente, conhecida como apomixia (Koltunow 1993). A ausência de testes de apomixia associada à alta freqüência de apomixia em famílias como Asteraceae (Werpachowski *et al.* 2004), Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998) e Poaceae (Savidan 1985), ambas com grande representatividade entre as espécies de cerrado, pode levar a subestimativa da freqüência de reprodução assexuada entre as espécies de cerrado.

Para a avaliação da ocorrência de apomixia, seriam necessários testes mais completos do que os comumente realizados em estudos reprodutivos na região (e.g. Oliveira & Gibbs 2000). Para espécies com apomixia sem pseudogamia (formação do zigoto e endosperma), são usados testes de emasculação para avaliação da formação de frutos autonomamente. No entanto, em espécies onde ocorre a pseudogamia, seriam necessárias análises embriológicas e genéticas das progênies, o que torna o trabalho mais complicado e longo; o que explica os poucos estudos existentes para o bioma (Costa *et al.* 2004, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, Souza *et al.* 2005). Uma evidência indireta para a presença de apomixia seria a ocorrência de embriões extranumerários na semente. A ocorrência de apomixia é diretamente correlacionada à presença de poliembrião e registros de poliembrião de origem sexuada são raros (Carman 1997, Naumova 1992). Entre espécies de Cerrado, a poliembrião foi registrada para 18,67% das espécies, em um levantamento entre 74 espécies, e essa presença foi utilizada como evidência de apomixia e da sua importância para o bioma, muitas vezes subestimadas (Salomão & Allem 2001). Allem (2003) parte desse pressuposto e revisa a literatura num escopo mais amplo, assumindo que a apomixia pode funcionar como um sistema reprodutivo para as angiospermas e como uma alternativa de reprodução no ambiente savânico, como o Cerrado. Sugerindo que tais processos seriam importantes como formas de persistência e manutenção de genótipos nesses ambientes.

Uma ampliação dos registros de ocorrência de poliembrião no cerrado poderia esclarecer a frequência de poliembrião no bioma e indicar possíveis espécies para a avaliação da ocorrência de apomixia, e permitir testar alguns aspectos ecológicos da ocorrência de poliembrião nessas espécies.

Objetivos da Tese

Com base na importância da poliembrionia e apomixia como alternativa reprodutiva e disseminada entre as angiospermas, o presente trabalho tem como objetivos:

- Avaliar se a frequência de espécies poliembriônicas no bioma Cerrado realmente é elevada e testar a correlação entre a poliembrionia e os diferentes sistemas de reprodução encontrados nesse ambiente. Além disso, separar as espécies em função da funcionalidade ou não da poliembrionia, o que poderá elucidar a real frequência de poliembrionia no bioma, e para quais espécies a poliembrionia pode estar ligada a estruturação das populações e comunidades de plantas da região. Esses resultados permitirão avaliar o papel da apomixia e da poliembrionia na reprodução de espécies de Cerrado.

- Verificar a relação entre apomixia e poliembrionia em Melastomataceae, um grupo conhecidamente apomítico (Goldenberg & Sheperd 1998).

- Testar, utilizando espécies de *Eriotheca* congênicas e que apresentam sistemas reprodutivos contrastantes (Oliveira *et al.* 1992), se a presença da poliembrionia e/ou apomixia implica em mudanças importantes na biologia e ecologia dessas espécies.

- Utilizar espécies conhecidamente poliembriônicas como *Eriotheca pubescens* e *Handroanthus chrysotrichus* para avaliar o efeito da poliembrionia na germinação de sementes, emergência de plântulas e no crescimento e estabelecimento de plântulas gemelares.

Estrutura da tese

A tese foi dividida em seis capítulos, com os seguintes enfoques:

Capítulo 1: Caracterização e classificação de espécies apomíticas e poliembriônicas -

A partir da literatura para apomixia e poliembriônica discutira a caracterização e classificação de espécies apomíticas e poliembriônicas, de maneira a permitir a organização dos dados disponíveis e a comparação entre as espécies com diferentes padrões.

Capítulo 2: Freqüência de poliembriônica em espécies do bioma Cerrado - Buscou-se

avaliar se a freqüência de espécies poliembriônicas no bioma Cerrado realmente é elevada e testar a correlação entre a poliembriônica e os sistemas reprodutivos nestas espécies. Além de determinar a freqüência de poliembriônica que pode ser usada para determinar a poliembriônica funcional para a espécie.

Capítulo 3: Polyembryony in Melastomataceae: multiples embryos in a small world -

A partir de uma avaliação da ocorrência da poliembriônica em uma ampla amostra de plantas da família Melastomataceae ocorrentes no bioma Cerrado, o trabalho visou verificar a relação entre apomixia e poliembriônica. Esta família apresenta número elevado de espécies com apomixia e representantes com poliembriônica. Desta maneira, a análise permitiu relacionar a poliembriônica com filogenia, modo de dispersão, padrão dispersão e outras características das espécies do grupo.

Capítulo 4: Mosaicos reprodutivos em Eriotheca (Bombacoideae, Malvaceae): reprodução sexual versus apomixia - O trabalho buscou evidenciar e descrever a distribuição e características dos mosaicos reprodutivos nas populações de duas espécies congênicas de *Eriotheca* ocorrentes no cerrado. Buscou-se ainda testar se a presença de poliembrião/apomixia implica, em mudanças na biologia e ecologia das espécies de *Eriotheca*.

Capítulo 5: Can polyembryony affect seed germination and seedling development in Eriotheca pubescens (Malvaceae-Bombacoideae)? - Buscou-se utilizar *Eriotheca pubescens* para avaliar do efeito da poliembrião sobre a germinação de sementes, emergência de plântulas e no crescimento de plântulas gemelares. Como a espécie apresenta populações sexuadas/monoembriônicas e populações assexuadas/poliembriônicas, este estudo permite uma comparação mais direta da influência da poliembrião. O estudo permitiu comparar esta espécie com *Eriotheca gracilipes*, simpátrica e com características similares, mas predominantemente monoembriônica e sexuada.

Capítulo 6: Como a poliembrião afeta embriões e plântulas de Handroanthus chrysotrichus (Bignoniaceae)? - Utilizou-se *Handroanthus chrysotrichus* para avaliar do efeito da poliembrião sobre a germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento de plântulas gemelares. Além de testar se a manipulação do número de plântulas por semente pode elucidar o efeito da poliembrião sobre o estabelecimento das plântulas.

Considerações finais - Apresentação dos principais resultados obtidos nos capítulos e as conclusões gerais da tese.

Referências Bibliográficas

- ALLEM, A.C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long-term evolutionary prospects in the Angiosperms. *The Botanical Review* 69:225-251.
- BARBOSA, A.A.A. & SAZIMA, M. 2008. Biologia reprodutiva de plantas herbáceo-arbustivas de uma área de campo sujo de Cerrado. *In Cerrado: ecologia e flora*. (S.M. Sano, S.P.d. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p.291-318.
- CARMAN, J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society* 61:51-94.
- COSTA, M.E., SAMPAIO, D.S., PAOLI, A.A.S. & LEITE, S.C.A.L. 2004. Polyembryony and aspects of embryogenesis in *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 27:395-406.
- KOLTUNOW, A.M. 1993. Apomixis: embryo sac and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell* 5:1425-1437.
- MENDES-RODRIGUES, C., CARMO-OLIVEIRA, R., TALAVERA, S., ARISTA, M., ORTIZ, P.L. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). *Plant Biology* 7:533-540.
- NAUMOVA, T.N. 1992. Apomixis in Angiosperms: Nucellar and integumentary embryony. 1th ed., CRC Press, Boca Raton.
- OLIVEIRA, P.E., GIBBS, P.E., BARBOSA, A.A. & TALAVERA, S. 1992. Constrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. *Plant Systematics and Evolution* 179:207-219.
- OLIVEIRA, P.E. & GIBBS, P.E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. *Flora* 195:311-329.

- RATTER, J.A., RIBEIRO, J.F. & BRIDGEWATER, S. 1997. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. *Annals of Botany* 80:223-230.
- SALOMÃO, A.N. & ALLEM, A.C. 2001. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. *Acta Botanica Brasilica* 15:369-378.
- SARAIVA, L.C., CESAR, O. & MONTEIRO, R. 1996. Breeding systems of shrubs and trees of a Brazilian Savanna. *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 39:751-763.
- SAVIDAN, Y.H. 1985. Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia. *In* I Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas. Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas. (M.L.R. Aguiar-Perecin, P.S. Martins & G. Brandel, eds.). Sociedade Brasileira de Genética, Piracicaba, p.37-50.
- SOUZA, L.A.D., IWAZAKI, M.C. & MOSCHETA, I.S. 2005. Morphology of the pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. (Bignoniaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48:407-418.
- WALTER, B.M.T., CARVALHO, A.M.D. & RIBEIRO, J.F. 2008. O conceito de Savana e de seu componente Cerrado. *In* Cerrado: ecologia e flora. (S.M. Sano, S.P.d. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p.19-45.
- WERPACHOWSKI, J.S., VARASSIN, I.G. & GOLDENBERG, R. 2004. The occurrence of apomixis and parthenocarpy in some subtropical Asteraceae. *Revista Brasileira de Botânica* 27:607-613.

Capítulo 1

Caracterização e classificação de espécies apomíticas e poliembriônicas

Resumo: Embora definições e sistemas de classificação de espécies apomíticas e poliembriônicas existam na literatura, os mesmos são de difícil aplicação, estão focados em apomixia gametofítica e incluem processos de reprodução vegetativa. Nesse contexto e a partir da literatura definimos os processos de reprodução assexuada via semente, apomixia; e propomos nova definição para a poliembrionia. A classificação proposta para as espécies apomíticas foi baseada na origem dos embriões, enquanto para as espécies poliembriônicas foi baseada na origem dos embriões (gametofítica e esporofítica), na identidade genética dos embriões (uniparental, biparental e mista), na funcionalidade da poliembrionia (funcional e não funcional) e na persistência da poliembrionia nas sementes maduras (persistente e transitória). Além do modelo de classificação apresentamos alguns dos aspectos que se fazem necessários estudar em espécies poliembriônicas que permitem tanta a classificação das espécies e o entendimento da biologia destas espécies.

Palavras chave: apomixia, diplosporia, aposporia, embrionia adventícia, poliembrionia, plântulas gemelares.

1. Introdução

A biologia de sementes é um tema amplamente estudado, com várias teorias já existentes para as diversas subáreas. Alguns aspectos relacionados a anatomia, formação dos gametófitos e ao desenvolvimento dos embriões têm chamado mais atenção dos pesquisadores e têm acumulado maior número de informações (Maheshwari 1963, Bhojwani & Bhatnagar 2008), os padrões de germinação de sementes (e.g. Baskin & Baskin 1998), os tipos de dormência (ver Lang 1996), os padrões de dispersão e de estabelecimento no campo (e.g. Baskin & Baskin 1998).

Entre os aspectos menos explorados da biologia das sementes estão a origem e as características genéticas dos embriões e das sementes. Os embriões e outros tecidos nas sementes podem tanto ser originados a partir de processos sexuais, onde o pólen pode ser advindo de outro indivíduo (polinização cruzada) ou do mesmo indivíduo (autopolinização) gerando sementes com certa heterogeneidade genética. E por processos assexuais em que o embrião é formado a partir de células não-reduzidas, oriundas de um saco embrionário não reduzido ou de tecido somático, com a formação autônoma de embriões assexuais, que apresentam características genéticas idênticas à planta mãe, ou ao tecido precursor conhecidos como apomixia (Koltunow 1993). Esses processos apomíticos não são exclusivos e comumente podem ocorrer conjuntamente com a fecundação da oosfera gerando uma mistura de sementes de origem sexual e assexual (Asker & Jerling 1992).

Outro aspecto pouco explorado da biologia de sementes é a ocorrência de mais de um embrião por semente, fenômeno conhecido como poliembrionia. O primeiro registro de poliembrionia foi feito para *Citrus* por Antoni van Leeuwenhoek em 1719 (Bhojwani & Bhatnagar 2008) e mais tarde foi descrita a formação de embriões adventícios por Strasburger em 1878, confirmando sua origem assexual via apomixia. Mas a origem da poliembrionia

também pode estar relacionada a processos de reprodução sexuada dos embriões (Naumova 1992) e a relação direta com a apomixia nem sempre é verdadeira.

O estudo desses aspectos da biologia de sementes é necessário e importante devido à alta frequência de apomixia e poliembria entre as Angiospermas (Carman 1997) e especialmente em grupos como Asteraceae (Werpachowski *et al.* 2004), Poaceae (Savidan 1985) Rutaceae (Moreira *et al.* 1947, Naumova 1992) e Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998; Goldenberg & Varassin 2001). A ocorrência desses processos também está associada às características ambientais e à história de diferentes biomas (Horandl & Paun 2007). A alta frequência de poliembria e possivelmente de apomixia entre as plantas de ambientes como o Cerrado e a Caatinga (Salomão & Allem 2001) e o papel relevante destes processos para a evolução desses grupos justificam a ampliação do estudo da ocorrência desses fenômenos no Bioma Cerrado. Seu papel na biologia das sementes é fundamental para se entender o padrão de estabelecimento e diversificação de espécies nesses ambientes (Allem 2003).

Mas para a compreensão da ecologia das sementes poliembriônicas é necessário o entendimento dos processos que dão origem a sementes poliembriônicas e uma clara classificação dos processos em função de diversos caracteres que permitem uma comparação entre as espécies. Apresentamos aqui uma organização das definições dos processos que dão origem à poliembria e propomos uma mudança no modelo de classificação dos processos e das espécies poliembriônicas. Além disso, apresentamos uma discussão sobre algumas das vantagens e desvantagens ecológicas da presença de poliembria para as sementes. Alguns destes conceitos fundamentais e idéias serão explorados e discutidos nos capítulos seguintes da tese.

2. Apomixia

A apomixia é conhecida como a formação de embriões sem a ocorrência de fecundação (sem a fusão de duas células gaméticas), por partenocarpia, a partir de células não reduzidas do gametófito ou do esporófito (Koltunow 1993). A apomixia pode ser classificada em gametofítica, quando os embriões são formados autonomamente a partir de células não reduzidas de um saco embrionário (gametófito), e esporofítica, quando os embriões são formados autonomamente a partir de células somáticas da planta mãe (esporófito adulto) ou do embrião e suspensor (esporófito jovem) (Koltunow 1993). A partir dessas informações, a apomixia pode ser subdividida em função da célula que dá origem aos embriões, conforme classificação sumarizada na Tabela 1.

2.1. - *Tipos de apomixia gametofítica*

Na apomixia gametofítica o embrião é originado autonomamente a partir da oosfera de um saco embrionário não reduzido ($2n$) ou de outra célula do gametófito masculino ou feminino. Seus subtipos são classificados em função da célula que dá origem ao saco embrionário:

2.1.1. - *Aposporia* - Na aposporia o saco embrionário não reduzido é formado a partir de uma célula do tecido esporogênico do óvulo denominas células apospóricas iniciais, geralmente ocorrendo nas proximidades da célula mãe de megásporo. Essas células passam por divisões mitóticas e dão origem a um saco embrionário não reduzido ($2n$), onde a oosfera da autonomamente dá origem ao embrião assexuado. Podem ser iniciadas mais de uma célula apospórica por óvulo, levando à formação de mais de um saco embrionário apospórico por óvulo. Nas espécies em que isto ocorre é possível a formação e a ocorrência de um saco embrionário de origem sexuada, juntamente com o saco apospórico, com a possibilidade de formação de embriões sexuados e assexuados na mesma semente. Os sacos embrionários

apospóricos normalmente apresentam somente quatro células (oosfera, duas sinérgides e o núcleo polar), em contraste com os sexuados, que apresentam comumente oito células (oosfera, duas sinérgides, dois núcleos polares e três antípodas) (Koltunow 1993).

Tabela 1. Sistema de classificação dos processos de desenvolvimento autônomo de embriões em espécies apomíticas em função da origem dos embriões e suas respectivas definições.

Tipos	Subtipos	Definição	Fatores relacionados
Gametofítica	Aposporia	Embrião originado partenogeneticamente a partir da oosfera de um saco embrionário não reduzido oriundo do tecido esporogênico	Usualmente pseudogâmica e poliplóide, raramente diplóide
	Diplosporia	Embrião originado partenogeneticamente a partir da oosfera de um saco embrionário não reduzido oriundo de uma célula mãe de megásporo não reduzida ou com meiose restitucional	Usualmente poliplóide, tem endosperma autônomo, raramente diplóide
	Sinérgide Apogametia	Embrião originado partenogeneticamente da sinérgide	Pode ocorrer sem fertilização
	Antípoda Apogametia	Embrião originado partenogeneticamente das antípodas	Pode ocorrer sem fertilização
	Androgênese	Embrião originado partenogeneticamente a partir de uma célula de grão de pólen	É necessária a polinização, tem desenvolvimento não descrito
Esporofítica	Embrionia Nucelar	Embrião originado partenogeneticamente a partir de uma célula do nucelo	Pseudogâmica
	Embrionia Tegumentar	Embrião originado partenogeneticamente a partir de uma célula do tegumento interno ou externo do óvulo	Pseudogâmica
	Embrionia Endospermática	Embrião originado partenogeneticamente a partir de uma célula do endosperma	Pseudogâmica
	Clivagem do Embrião	Embrião originado a partir da divisão do embrião sexuado por clivagem ou formação de botões	Pseudogâmica
	Clivagem do Suspensor	Embrião originado partenogeneticamente de uma célula do suspensor	Pseudogâmica

2.1.2. - *Diplosporia* - Na diplosporia, o saco embrionário é formado a partir da célula mãe de megásporo. Em algumas espécies a célula mãe de megásporo pode dar origem ao saco embrionário sem a ocorrência de meiose reducional, a partir de divisões mitóticas que originam um saco embrionário não reduzido. Em outras espécies, a célula mãe de megásporo sofre meiose reducional e posteriormente duplica o número cromossômico (voltando a $2n$), num processo denominado meiose restitucional. Os embriões são formados autonomamente a partir da oosfera desse saco embrionário diplospórico (Koltunow 1993).

Para a efetivação da formação da semente, em muitas espécies com apomixia gametofítica, é necessária a ocorrência de pseudogamia, ou seja, a fecundação dos núcleos polares para a formação do endosperma, tecido nutritivo para os embriões. Algumas dessas espécies também formam o zigoto concomitantemente aos embriões assexuados. No entanto, espécies com apomixia gametofítica podem ser capazes de formar autonomamente o endosperma, o que torna a polinização, a pseudogamia e a formação do embrião zigótico desnecessárias. A formação de endosperma autônomo é mais comum em espécies com apomixia diplospórica (Koltunow 1993).

2.1.3. - *Sinérgide Apogametia* – Nesse processo o embrião é formado autonomamente a partir da sinérgide do saco embrionário sexuado. O processo pode ocorrer sem a fecundação da oosfera.

2.1.4. - *Antípoda Apogametia* – Nesse processo o embrião é formado autonomamente a partir da antípoda do saco embrionário sexuado. O processo pode ocorrer sem a fecundação da oosfera.

2.1.5. - *Apomixia paternal – Androgênese* – Embora seja um processo ainda pouco conhecido, a apomixia paternal ocorre quando os embriões são formados a partir de células do

grão de pólen, ou seja, o embrião é formado autonomamente a partir de uma das células do tubo polínico que penetram no óvulo, embora seus processos embriológicos não sejam conhecidos. Um único registro foi feito para *Cupressus dupreziana* A. Camus (Cupressaceae), sendo que tal processo foi confirmado pela identidade genética entre as progênies e a planta utilizada como doadora de pólen (Pichot *et al.* 2001), pela ausência de alelos maternos nas progênies (Pichot *et al.* 2000), pela formação de grãos de pólen diplóides na espécie e pela formação de progênies haplóides a partir de pólen haplóide de outras espécies do mesmo gênero (Pichot *et al.* 2008).

2.2. Tipos de apomixia esporofítica

Na apomixia esporofítica o embrião é formado a partir de células somáticas da planta mãe ou do embrião. A apomixia esporofítica é conhecida como embrionia adventícia, em referência à formação de embriões sem a necessidade de formação de um saco embrionário. Geralmente os embriões adventícios dependem da formação do embrião zigótico e de endosperma.

Entre os tecidos, que dão origem aos embriões adventícios, podem ser citados o nucelo, os tegumentos, o endosperma, o tecido do embrião sexuado ou do suspensor. Geralmente a embrionia adventícia é relacionada à ocorrência de poliembrionia, uma vez que a formação do embrião sexuado é obrigatória, juntamente com a formação do endosperma, que serve de tecido nutritivo para os dois tipos de embrião (Koltunow 1993). A apomixia esporofítica pode ser subdividida em função do tecido que dá origem aos embriões adventícios, sendo considerados os subtipos descritos abaixo:

2.2.1. - *Embrionia nucelar* – Ocorre quando o embrião é originado autonomamente a partir de células do tecido nucelar. Geralmente está associada à formação do zigoto e do endosperma, que fornece nutrição tanto aos embriões sexuais quanto aos nucleares. As

células precursoras dos embriões podem ser identificadas desde a fase de óvulo, como em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. (Koltunow *et al.* 1995); concomitantemente à formação dos embriões sexuados, como em *Handroanthus ochraceus* (Costa *et al.* 2004); ou após a formação do embrião zigótico, como em *Eriotheca pubescens*, onde as células iniciais dos embriões assexuados se formam até 32 dias após a polinização (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005).

2.2.2. - *Embrionia tegumentar* – ocorre quando o embrião tem origem autônoma, a partir de células do tegumento interno ou externo do óvulo. Geralmente está associada à formação do zigoto e do endosperma. Em muitas espécies o embrião não chega até o desenvolvimento final, estacionando em fases iniciais, ou degeneram. Exemplos ocorrem em *Euonymus* spp., Celastraceae; e *Eugenia* spp., Myrtaceae (Naumova 1992).

2.2.3. - *Embrionia endospermática* – ocorre quando o embrião é originado autonomamente a partir de células do endosperma. Batygina & Vinogradova (2007) citam a ocorrência nos gêneros *Triticum*, *Isomeris*, *Brachiaria* e *Beta*, embora os processos de desenvolvimentos não sejam descritos.

2.2.4. - *Clivagem do embrião* - O embrião sexuado passa por um processo de divisão que leva à formação de mais de um embrião. Essa divisão pode se dar pela fissão do embrião ou pela formação de gemas. Exemplos ocorrem em *Cymbidium bicolor* Lindl., *Erythronium americanum* Ker Gawl., *Erythronium denscanis* L., *Eulophia epidendreaea* (Retz) Fischer, Orchidaceae; *Tulipa gesneriana* L., Liliaceae; *Nicotiana rustica* L., Solanaceae; *Lobelia siphilitica* L., Campanulaceae (ver referências em Batygina & Vinogradova 2007).

2.2.5. - *Clivagem do suspensor* - Algumas células do suspensor começam a se dividir e dão origem autonomamente a embriões extranumerários. Esse tipo está presente em *Chamaecyparis obtusa* (Siebold & Zucc.) Siebold & Zucc. ex Endl., Cupressaceae (Buchholz 1932) e *Garrya veatchii* Kell, Garryaceae (Mohana Rao 1963).

2.3. *Importância relativa*

A formação de embriões a partir da aposporia e da diplosporia ocorrem em 33 famílias de angiospermas, embora a embrionia adventícia ou apomixia esporofítica seja o tipo de apomixia mais comum, ocorrendo em 115 famílias (Carman 1997). A embrionia adventícia também está fortemente correlacionada à presença de poliembrionia (Batygina & Vinogradova 2007, Carman 1997, Naumova 1992).

3. **Poliembrionia**

A poliembrionia tem sido definida tradicionalmente como a ocorrência de mais de um embrião por semente. Essa definição gera confusão, uma vez que algumas espécies mostram a ocorrência de embriões que não chegam à maturidade ou degeneram durante o processo, gerando sementes com embriões extranumerários rudimentares ou degenerados ou até mesmo gerando sementes monoembriônicas.

Ainda gera confusão na definição de espécies poliembriônicas, uma vez que estudos têm mostrado que a frequência de poliembrionia pode variar amplamente, de uma a todas as sementes na amostra, entre diferentes espécies (Kaur *et al.* 1978, Salomão & Allem 2001), o que demonstra a necessidade de uma nova reformulação da definição.

Numa tentativa de resolver esses problemas, estamos propomos uma nova definição de poliembrionia como sendo a ocorrência de mais de um embrião por óvulo ou semente, independente da persistência dos embriões extranumerários até o final do desenvolvimento da

semente. Espécies poliembriônicas seriam então definidas como espécies que apresentam a ocorrência de óvulos ou sementes poliembriônicas, independente da frequência de ocorrência de poliembria nos óvulos ou nas sementes, ou da degeneração dos embriões extranumerários.

Essa nova definição permite a separação de indivíduos monoembriônicos e poliembriônicos dentro de uma mesma espécie. Levaria em conta ainda a degeneração dos embriões, o que permitiria a reclassificação de espécies monoembriônicas na fase de semente madura daquelas que apresentam poliembria em algumas fases do desenvolvimento da semente ou em frequências relativamente baixas.

3.1. Caracterização da poliembria

Para uma classificação das espécies poliembriônicas como um todo, tornam-se necessário uma completa caracterização das sementes poliembriônicas. Como parte da caracterização incluem a origem dos embriões, sua identidade genética, sua persistência nas sementes e a frequência com que a poliembria ocorre na espécie, nos indivíduos e populações.

3.1.1 Caracterização embriológica – O primeiro passo para a avaliação da poliembria é sua caracterização embriológica, para determinar se a origem dos embriões é gametofítica ou esporofítica. O uso de calendários reprodutivos, calendários para o desenvolvimento dos gametófitos e para a embriogênese, definidos a partir do tempo de antese da flor, têm sido de grande importância, tendo em vista o surgimento dos embriões extranumerários em fases diferentes de formação do embrião sexuado. Em *Citrus sinensis*, já na fase de óvulo, podem ser observadas células precursoras de embriões adventícios a partir do nucelo, que conseguem atingir até a fase globular em óvulos não fertilizados (Koltunow *et al.* 1995), sendo que os embriões nucelares somente chegam à maturidade em óvulos fertilizados. Em *Eriotheca pubescens* os embriões nucelares iniciam seu desenvolvimento a

partir de 32 dias após a antese, quando os embriões sexuados já se encontram no estágio globular a cordiforme (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005). Em *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns (Malvaceae), a origem dos embriões nucelares ocorre cerca de 20 dias após a antese (Duncan 1970), enquanto em *Handroanthus ochraceus* ocorre concomitante à formação dos embriões sexuados (Costa *et al.* 2004). A maioria dos estudos é capaz de determinar a origem dos embriões adventícios, embora tenham falhado na distinção mais tardia de embriões sexuados e adventícios, a partir de descritores morfológicos. Esta separação mais tardia esbarra no fato de que embriões adventícios e sexuados apresentam a mesma morfologia, passando a ser indistinguíveis na semente madura (Koltunow 1995, Costa *et al.* 2004, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005).

3.1.2. Caracterização da identidade genética das progênies – A dificuldade em separar os embriões adventícios dos sexuados com base na morfologia tem sido superada pelo uso de estudos genéticos. Os embriões podem ser de origem biparental (fusão de dois gametas) ou uniparental (embriões de origem somática). Os estudos de identificação genética têm se concentrado em *Citrus*, devido a exigências do processo de seleção comercial das espécies. Diferentes métodos, tais como marcadores moleculares tipo RAPD (Bastianel *et al.* 1998; Andrade-Rodriguez *et al.* 2005), isoenzimas (Torres *et al.* 1982, Schnell *et al.* 1992), SSR (Oliveira *et al.* 2002) e DNA fingerprinting (Luro *et al.* 1995) têm sido utilizados para esse fim.

Embora os marcadores moleculares apresentem os melhores resultados, marcadores morfológicos ou bioquímicos também têm sido utilizados na tentativa de separação dos diferentes tipos de embriões. Cruzamentos controlados entre *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., Rutaceae, com genes dominantes para folhas trifolioladas, e espécies poliembriônicas com genes recessivos para folhas unifolioladas, permitem a separação entre os dois tipos de

progênies, uma vez que plântulas zigóticas são trifolioladas e plântulas assexuadas são unifolioladas (Rajasekharan *et al.* 1995).

Embora sejam comuns trabalhos que caracterizem a variabilidade genética entre as progênies, os estudos populacionais de espécies ainda são raros. Muitas vezes esses estudos são raros pelo desconhecimento da ocorrência de poliembrionia ou até mesmo de apomixia nas espécies estudadas. Muitos trabalhos de genética populacional não levam em consideração o sistema reprodutivo da espécie, e em vários casos, o sistema reprodutivo e a ocorrência de apomixia na espécie são desconhecidos.

3.1.3. Caracterização da frequência de poliembrionia – Estudos de variabilidade na ocorrência de poliembrionia devem levar em consideração as variações entre anos para um mesmo indivíduo, entre indivíduos de uma mesma população, entre populações de uma mesma espécie e entre espécies de um mesmo gênero ou família. Outros aspectos como nutrição, idade, condições ambientais também podem ter efeito sobre a expressão da poliembrionia, embora poucos estudos tenham se atentado aos fatores determinantes das variações na ocorrência de poliembrionia (Asker & Jerling 1992, Naumova 1992).

Estudos sobre caracterização da frequência de poliembrionia têm avaliado a variação entre indivíduos como em *Inga laurina* (Sw.) Willd., Fabaceae (Mendes-Rodrigues *et al.* 2008b); entre populações, como em *Clidemia hirta* (L.) D. Don, Melastomataceae (Mendes-Rodrigues *et al.* 2008a) e entre espécies de um mesmo grupo taxonômico como *Allium* L. (Specht *et al.* 2001) Dipterocarpaceae Bl. (Kaur *et al.* 1978), Orchidaceae (Singh & Thimmappaiah 1982). Variações quanto ao número de embriões para diferentes anos foram detectadas para *Spiranthes cernua* (L.) Rich. (Schmidt & Antlfinger 1992), para espécies de *Allium* L. (Specht *et al.* 2001) e de *Citrus* (Moreira *et al.* 1947). Variações entre frutos de uma mesma planta foram registrados para *Eriotheca pubescens* (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) e *Citrus* spp. (Moreira *et al.* 1947).

A ocorrência de indivíduos monoembriônicos e de indivíduos poliembriônicos em uma mesma espécie também foi descrita em *Citrus* spp. (Cameron & Soost 1979, Wilms *et al.* 1983, Domingues *et al.* 1999), *Eriotheca pubescens* (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005); *Nigritella nigra* (L.) Reichb. f. (Teppner 1992) e *Spiranthes cernua* L. Rich. (Schmidt & Antlfinger 1992). Outros estudos mostram ainda variação na razão entre formas apomíticas e sexuais em populações dos gêneros *Rubus*, *Potentilla*, *Alchemilla* e *Sanquisorba* (Naumova 1992). Tais observações reforçam a necessidade de estudos mais detalhados para espécies poliembriônicas que levem em conta a existência de indivíduos monoembriônicos e poliembriônicos em uma mesma espécie. Mas estudos que expliquem a variação na frequência de poliembrionia em espécies tropicais, majoritariamente com apomixia esporofítica, ainda são raros (Naumova 1992).

3.2. Métodos de avaliação da frequência de poliembrionia

Um importante aspecto para a avaliação da frequência de poliembrionia é a escolha do método de avaliação. Abaixo estão descritos alguns dos métodos mais utilizados nessa avaliação.

3.2.1. *Dissecação de sementes* - Consiste na dissecação das sementes maduras e contagem do número de embriões por semente. Este o método mais indicado, por ser a melhor estimativa do número de embriões formados por semente e ser aplicável em diferentes fases de desenvolvimento da semente. Seus problemas estão relacionados à contagem de embriões de tamanho reduzido, ou à presença de embriões imbricados e de difícil separação, dificuldades que podem ser reduzidas pela embebição prévia da semente.

3.2.2. *Protrusão de radículas* – Este método consiste em avaliar o número de radículas produzidas por semente germinada, sendo que esse número pode ser utilizado como preditor

do número de plântulas produzidos por semente, como foi feito para *Vincetoxicum rossicum* (Hotchkiss *et. al.* 2008). Essa técnica pode subestimar o número de embriões por semente caso ocorram embriões com emissão tardia de radículas em fases posteriores a avaliação. Esta é uma boa escolha para estudos de campo, em que torna-se necessário estimar o número de embriões ou de plântulas por semente, sem danificar a semente (Hotchkiss *et. al.* 2008).

3.2.3. *Emissão de plântulas* - Consiste na avaliação do número de plântulas produzidas por semente, em semeaduras feitas sobre o substrato. Neste método, as sementes são postas para germinar sobre o substrato para evitar pressão física que dificulte o rompimento da testa. Pode ser importante para a avaliação do efeito do substrato na expressão da poliembrião, ou seja, quanto o substrato pode diminuir a expressão de plântulas múltiplas. Também é importante no estudo de espécies com sementes de tamanho reduzido que inviabilize a dissecação da semente.

3.2.4 *Emergência de plântulas* – Consiste na avaliação do número de plântulas produzidas por semente efetuando-se as contagens após a emergência acima do nível do substrato. Esse método é importante na avaliação do efeito do sítio de emergência na frequência de plântulas gemelares. Considera-se aqui plântulas gemelares aquelas plântulas oriundas de sementes poliembriônicas onde ocorreu a emergência de mais de uma plântula por semente. A avaliação do número de plântulas gemelares por semente é um importante método de avaliação da capacidade das espécies poliembriônicas em converterem seus embriões em plântulas, sendo que o número de plântulas por semente pode ser considerado o resultado final da poliembrião.

3.2.5. *Sobrevivência de plântulas* – Consiste na avaliação do número de plântulas sobreviventes por semente após um determinado período de tempo depois da semeadura ou

emergência. Esse método é importante para espécies onde não é possível o acompanhamento diário da emergência de plântulas para a avaliação do número máximo de plântulas produzidas por semente. Também pode ser importante na avaliação da capacidade de sobrevivência de plântulas gemelares em determinada condição experimental, ou no campo, em que as visitas podem ser o fator limitante da análise

4. Classificação da Poliembria

Embora existam revisões sobre classificações de poliembria como Batygina & Vinogradova (2007) e Koltunow (1993), essas são de difícil utilização devido à inclusão de processos de reprodução vegetativa e a não descrição de todas as possibilidades de ocorrência de poliembria dentro do modelo (Batygina & Vinogradova 2007), ou ainda somente a classificação de apomixia (Koltunow 1993).

O sistema de classificação proposto neste capítulo para organizar as informações relativas a poliembria é fundamentado na origem dos embriões extranumerários, na identidade genética dos embriões dentro de uma semente e na frequência de poliembria nas sementes (Tabela 2). Essa classificação pode ser importante para a padronização dos estudos e dos potenciais efeitos da poliembria sobre a biologia das sementes.

Tabela 2. Sistema de classificação de espécies poliembriônicas em função da origem dos embriões e de sua identidade genética e da frequência de poliembriônia; e suas respectivas definições.

Critério	Tipos	Subtipos	Definição
Origem	Gametofítica	Plurissacal	Originada da fecundação de múltiplos sacos embriionários, ou do desenvolvimento de embriões autônomos a partir de sacos embriionários apomíticos.
		Unissacal	Originada da fecundação adicional de células do saco embriionário como as antípodas e sinérgides.
	Esporofítica	Nuclear	Originada do desenvolvimento autônomo dos embriões a partir de células do nucelo.
		Tegumentar	Originada do desenvolvimento autônomo dos embriões a partir de células do tegumento interno ou externo do óvulo.
		Zigótica	Originada do desenvolvimento autônomo dos embriões a partir de células do embrião ou do suspensor, quando de origem zigótica.
Endospermica	Originada do desenvolvimento autônomo dos embriões a partir de células do endosperma.		
Identidade genética	Biparental		Ocorre quando todos os embriões apresentam origem biparental, com identidade genética diferente entre si e da planta mãe, originadas da fecundação de múltiplos sacos embriionários ou de outras células do saco embriionário.
	Uniparental		Ocorre quando todos os embriões têm origem uniparental, com a mesma identidade genética entre si ou identidade genética idêntica à planta mãe, originados por processos de clivagem do embrião sexuado, do suspensor ou por apomixia (aposporia).
	Mista		Ocorre quando existem embriões de origem biparental e uniparental na mesma semente mostrando vários padrões genéticos dentro da mesma semente.
Frequência	Funcional		Ocorre em espécies em que as frequências de poliembriônia são constantes, altas e não estão relacionados a erros de desenvolvimento.
	Não-funcional		Ocorre em espécies predominantemente monoembriônicas em que as frequências de poliembriônia são baixas e irrelevantes e normalmente estão relacionados a erros de desenvolvimento.
Persistência	Persistente		Ocorre em espécies onde a poliembriônia se mantém nas diferentes fases do desenvolvimento da semente
	Transitória		Ocorre em espécies em que a poliembriônia pode ser observada somente em algumas fases do desenvolvimento das sementes, como em fases iniciais de formação dos embriões, quando normalmente apresentam frequências altas. Neste caso, em sementes maduras a poliembriônia é rara ou ausente.

4.1. Origem dos embriões

A poliembriõnia era dividida tradicionalmente em falsa e verdadeira (Bhojwani & Bhatnagar 2008), sendo classificada em falsa quando originada a partir de mais de um saco embrionário, e verdadeira quando originada da fecundação de sinérgides, antípodas ou originada a partir de células do tecido materno (nucelo ou tegumento). O problema é que o termo “falsa” pode gerar a idéia de que na semente madura não ocorra mais de um embrião. A poliembriõnia verdadeira é, em alguns casos, considerada somente quando os embriões supranumerários são originados de gemas ou divisões do embrião zigótico (Johansen 1950). Por sua vez, poliembriõnia falsa também é usada para espécies que produzem mais de uma plântula por semente, geradas por processos vegetativos, como em *Zea mays* L., Poaceae (Kieselbach, 1926).

Como forma de modificar esses conceitos, foi necessário definir a origem dos embriões. A poliembriõnia foi classificada em gametofítica e esporofítica, a partir dessa classificação, a poliembriõnia foi agrupada em vários subgrupos (Batygina & Vinogradova 2007), aqui reordenados.

4.1.1. Poliembriõnia Gametofítica - É caracterizada quando os embriões extranumerários são originados a partir de uma célula do gametófito podendo ser subdividida em plurissacal e unissacal.

4.1.1.1. Poliembriõnia Gametofítica Plurissacal - É caracterizada pela fecundação de múltiplos sacos embrionários em um mesmo óvulo ou pelo desenvolvimento autônomo de embriões a partir de sacos embrionários apomíticos ocorrentes em um mesmo óvulo. A fecundação de múltiplos sacos embrionários pode ser encontrada em alguns membros de Vochysiaceae (Oliveira 1998), Loranthaceae, ex. *Dendrophthoe neelgherrensis* van Tiegh

(Narayana 1954 *apud* Bhojwani & Bhatnagar 2008) e *Scurrula pulverulenta* (Wallich) G. Don (Bhojwani 1968 *apud* Bhojwani & Bhatnagar 2008).

4.1.1.2. Poliembryonia Gametofítica Unissacal - É caracterizada pela origem dos embriões extranumerários a partir de células de um único saco embrionário, podendo ocorrer pela fecundação de mais de uma célula do saco embrionário ou pelo desenvolvimento autônomo de uma de suas células. Nesses casos, a formação dos embriões extranumerários se dá juntamente com a fecundação da oosfera para a formação do zigoto. São conhecidos casos de fecundação da sinérgide em *Sagittaria gramínea* Michx., Alismataceae; *Poa alpina* L., Poaceae; *Aristolochia bracteata* Retz., Aristolochiaceae; desenvolvimento autônomo da sinérgide em *Argemone mexicana* L., Papaveraceae e *Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae e a partir das antípodas em *Paspalum scrobiculatum* L., Poaceae; *Ulmus americana* L. e *Ulmus glabra* Huds., Ulmaceae (Bhojwani & Bhatnagar 2008).

4.1.2. Poliembryonia Esporofítica - É caracterizada pela formação autônoma de embriões extranumerários a partir de células somáticas do esporófito adulto ou jovem (planta mãe, embrião e suspensor). Geralmente está associada à formação paralela do embrião zigótico e do endosperma. Pode ser subdividida em nucelar, tegumentar, zigótica e endospermica,

4.1.2.1. Poliembryonia Esporofítica Nucelar - Caracterizada pela formação autônoma do embrião extranumerário a partir de células do nucelo. É provavelmente o tipo mais comum entre as angiospermas, sendo comum nas famílias Rutaceae ex. *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. (Koltunow *et al.* 1995), Cactaceae ex. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill (Mondragon Jacobo 2001) em Bombacoideae, Malvaceae ex. *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns (Duncan

1970) e *Eriotheca pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott. & Endl. (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005).

4.1.2.2. *Poliembrionia Esporofítica Tegumentar* - Caracterizada pela formação autônoma do embrião extranumerário a partir de células do tegumento externo ou interno do óvulo. É encontrada em algumas espécies de Orchidaceae e em *Euonymus*, Celastraceae (Naumova 1992).

4.1.2.3. *Poliembrionia Esporofítica Zigótica* - Caracterizada pela formação de embriões extranumerários pela clivagem do embrião sexuado ou do suspensor, quando este for derivado da célula basal do zigoto. Ex.: clivagem do embrião: *Eulophia epidendreaea* (Retz) Fischer, Orchidaceae (Swamy 1943); clivagem do suspensor: *Exocarpus sparteus*, Santalaceae (Ram 1959 apud Bhojwani & Bhatnagar 2008), *Zygophyllum fabago* L., Zygophyllaceae (Bhojwani & Bhatnagar 2008).

4.1.2.4. *Poliembrionia Esporofítica Endospermica* - Caracterizada pela formação autônoma do embrião extranumerário a partir de células do endosperma, tendo como exemplo *Brachiaria setigera*, Poaceae (Muniyamma 1978 apud Bhojwani & Bhatnagar 2008).

4.2. Identidade genética dos embriões

A classificação da poliembrionia em função da identidade genética dos embriões é fundamental para o estudo da biologia das sementes, uma vez que sementes poliembriônicas podem apresentar embriões com ou sem heterogeneidade genética.

4.2.1. *Poliembrionia Biparental* - A poliembrionia pode ser classificada como biparental quando os embriões formados apresentam herança a partir de dois parentais, neste

caso apresentando identidade genética diferente entre si e são diferentes da planta mãe, não ocorrendo clones na progênie. A poliembrionia biparental pode ser originada a partir da fecundação de múltiplos sacos embrionários, como ocorre em Vochysiaceae (Oliveira 1998), ou ainda a partir da fecundação adicional de células do saco embrionário como as antípodas e as sinérgides, como ocorre em *Najas major* All., Hydrocharitaceae; *Cuscuta reflexa* Roxb., Convolvulaceae; *Tamarix ericoides*, Rottl., Tamaricaceae e *Pennisetum squamulatum* Fresen, Poaceae (Batygina & Vinogradova 2007).

4.2.2. *Poliembrionia Uniparental* - É assim classificada quando todos os embriões formados apresentam uma única herança parental e são clones entre si. Sendo que eles podem ter identidade genética idêntica à planta mãe, quando são originados por aposporia ou identidade genética diferente da planta mãe, mas idêntica entre os embriões, quando são originados da clivagem do embrião sexuado ou do suspensor. Pode ocorrer em espécies com múltiplos sacos embrionários apospóricos, ou ainda em espécies com clivagem do embrião sexual e/ou do suspensor. Ex.: *Zeuxine sulcata* (L.) Lindl., Orchidaceae (Johansen 1950).

4.2.3. *Poliembrionia Mista* - É caracterizada quando se tem, em uma única semente, embriões com herança biparental e uniparental. Podem ser identificados embriões clonais de origem apomítica (com herança uniparental) e o embrião sexuado com identidade genética diferente da planta mãe (com herança biparental). É comumente encontrada em espécies com embrionia adventícia, uma vez que juntamente com o embrião sexuado se dá a formação dos embriões adventícios que são clones idênticos à planta mãe. Também pode ocorrer em espécies apospóricas e diplospóricas, onde se tem a formação do saco embrionário sexuado que, fecundado, gera um embrião zigótico, geneticamente diferente dos embriões assexuados. Poliembrionia mista foi detectada em *Citrus* spp., Rutaceae (Bastianel *et al.* 1998); *Hopea*

odorata Roxb., Dipterocarpaceae (Wickneswari *et al.* 1995) e *Hieracium*, Asteraceae (Bicknell *et al.* 2003).

4.3. *Frequência da Poliembriõnia*

Embora as espécies possam ser definidas como poliembriônicas a partir da ocorrência de somente uma semente poliembriônica em uma amostra, provavelmente as frequências baixas de poliembriõnia não são capazes de alterar a biologia das sementes e seu papel para a espécie pode ser irrelevante, enquanto para outras espécies a frequência de poliembriõnia é alta e tem um papel na biologia das sementes. Para contrapor esses dois cenários se faz necessária a classificação das espécies poliembriônicas em função da frequência de poliembriõnia e seu papel na biologia das sementes.

4.3.1. Poliembriõnia Funcional - Ocorre quando a presença de poliembriõnia nas sementes é um fator comum e presente em frequência elevada ou equivalente às espécies poliembriônicas do grupo, não sendo resultado de más-formações durante o desenvolvimento do embrião sexuado. Nessas espécies a poliembriõnia é fisiológica. No bioma Cerrado espécies com poliembriõnia funcional são consideradas aquelas com percentagem de sementes poliembriônicas a partir de 5% (Capítulo 2).

4.3.2. Poliembriõnia não-funcional - Ocorre em espécies claramente monoembriônicas, onde a poliembriõnia é resultado de más-formações no desenvolvimento das sementes, e a frequência de sementes com poliembriõnia é muito baixa, quando comparada às espécies poliembriônicas do mesmo grupo.

Para a separação entre poliembriõnia funcional e não-funcional é importante o conhecimento do grupo de estudo, para a determinação da frequência mínima necessária para a classificação de uma espécie como poliembriônica funcional ou a determinação da origem

dos embriões, que pode esclarecer se a poliembrião é uma característica intrínseca e fisiológica da espécie.

Um dos poucos grupos com a poliembrião definida em função da frequência é o gênero *Citrus*, Rutaceae. Nesse grupo foram criadas faixas que servem para a classificação das espécies como tendo poliembrião baixa (0 a 30%), média (30 a 60%) e alta (60 a 100%) (Moreira *et al.* 1947).

4.4. *Persistência da Poliembrião*

Um importante aspecto da poliembrião é sua persistência em sementes maduras. Muitas espécies de gimnospermas e algumas angiospermas como membros de Vochysiaceae, por exemplo, apresentam altas porcentagens de sementes poliembriônicas de poliembrião em sementes imaturas, mas apresentam valores baixos em sementes maduras (Oliveira 1998).

4.3.3. Poliembrião Persistente - Ocorre quando a poliembrião pode ser observada na semente madura nas mesmas frequências que em óvulos ou sementes imaturas.

4.3.3. Poliembrião Transitória - Ocorre quando a presença de poliembrião é verificada somente em alguma fase do desenvolvimento da semente. Na semente madura resta apenas um embrião, ou a frequência de sementes poliembriônicas é muito reduzida comparada a outras fases do desenvolvimento onde a frequência de poliembrião é alta. Esse tipo é comum em algumas espécies de gimnospermas, onde a maioria dos óvulos apresenta mais de um embrião, mas as sementes maduras são monoembriônicas. Situação semelhante ocorre em espécies de Vochysiaceae (Oliveira 1998; Custódio 2008).

5. Ecologia da poliembria

Associados à caracterização da ocorrência de poliembria e à sua classificação, são necessários estudos que determinem os possíveis fatores ambientais e genéticos capazes de influenciar a expressão de poliembria. Para isto, é necessário o conhecimento dos fatores que controlam a poliembria, sua distribuição nas espécies e formas de identificar as vantagens e desvantagens das sementes poliembriônicas em comparação às sementes monoembriônicas.

5.1. Fontes de variação da poliembria

Poucos estudos têm determinado o efeito de diferentes fatores sobre a variação dos níveis de poliembria e como esses fatores podem ser influenciados pelas condições ambientais. Os estudos existentes restringem-se à comparação do efeito de polinizações cruzadas e autopolinizações (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) e cruzamentos interespecíficos (Ramos & Pasqual 1991a, Rajasekharan *et al.* 1995).

Outros fatores também são capazes de afetar o número médio de embriões por semente como a idade da árvore (aumentando em árvores mais velhas), produção de frutos (maior em anos com maior produção), estado nutricional (diminuído com a redução do suprimento) e orientação do ramo (maior em ramos no norte que aqueles do sul) isolamento dos indivíduos no campo (menor em árvores isoladas, possivelmente relacionado ao tipo de pólen nos cruzamentos) (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, Furusato *et al.* 1957 *apud* Bhojwani & Bhatnagar 2008).

Na tentativa de prever o número de embriões por semente, muitos autores têm associado o número de embriões com a biometria de frutos e sementes. Foram obtidas correlações com a massa e a espessura da semente em e com o percentual de pólen viável *Citrus* spp (Bowman *et al.* 1995 Domingues *et al.* 1998 e Domingues *et al.* 1999). Por outro

lado, não foram encontradas correlações significativas entre o diâmetro dos frutos com a taxa de poliembrionia em *Citrus limonia* Osbeck. (Ramos & Pasqual 1991b) e cruzamentos de *Citrus limonia* x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. (Ramos & Pasqual 1992).

Fatores ambientais como a polinização, fotoperíodo ou a temperatura têm sido registrados como capazes de alterar a frequência de reprodução assexuada em espécies com apomixia gametofítica (Asker & Jerling 1992). Outros métodos de inibição ou indução de poliembrionia também têm sido utilizados, como uso de irradiação gama contínua, capaz de inibir a embriogênese de alguns embriões nucleares (Watanabe 1985).

5.2. Ocorrência de apomixia e poliembrionia em comunidades vegetais - A ocorrência de apomixia e anomalias reprodutivas foram revisadas por Carman (1997) que registrou 21 famílias de angiospermas com aposporia, 21 com diplosporia e 52 com embriões adventícia. A poliembrionia ocorreu em 115 das 348 famílias avaliadas (33,05%), mostrando-se o fator mais comum entre as angiospermas. A apomixia e partenogênese geográfica foram mais comuns em ambientes com formação mais recente e frios, indica que estes processos devem ser mais comuns em certas condições ecológicas (Hörandl & Paun 2007). Um estudo com 75 espécies ocorrentes nos biomas Cerrado e Caatinga mostrou que 18,67% das espécies apresentavam poliembrionia e possivelmente apomixia (Salomão & Allem 2001), indicando que esses fenômenos são mais comuns do que anteriormente sugerido, também em determinados ambientes tropicais (Allem 2003).

5.3. Conseqüências e associações da poliembrionia

Embora a ocorrência de poliembrionia tenha sido registrada como um dos processos mais comuns entre as Angiospermas, relações filogenéticas dentro de famílias dentro de famílias, sua associação com determinadas comunidades e populações, ou suas relações com determinadas regiões ou biomas. Aspectos ecológicos sobre a biologia da semente se

restringem ao estudo de espécies econômicas como *Citrus* (Xiang & Roose 1988) ou invasoras como *Vincetoxicum rossicum* (Cappuccino 2004, Hotchkiss et al. 2008).

Os estudos sobre as conseqüências da poliembrião sobre a biologia das sementes têm se mostrado incapazes de esclarecer claramente as vantagens da poliembrião (Cappuccino 2004, Hotchkiss et al. 2008), sendo que os aspectos negativos da presença da poliembrião têm sido mais claramente apresentados na literatura (Mendes-da-Gloria et al. 2001; Mendes-Rodrigues et al. 2005).

5.3.1. Desvantagens da poliembrião

As desvantagens da poliembrião são causadas pela diminuição de massa dos embriões gemelares dentro de uma semente. A seguir serão descritas algumas dessas desvantagens e serão propostos alguns modelos e métodos de estudo que permitem padronizar e comparar essas espécies.

5.3.1.1. *Competição entre embriões* – A maioria das espécies poliembriônicas tendem a mostrar a mesma massa média entre as sementes, independente do número de embriões produzidos pela semente, como foi registrado para *Vincetoxicum rossicum* (Ladd & Cappuccino 2005). Como a massa por semente é mantida, inclusive por outras pressões ecológicas e morfofisiológicas (Harper *et al.* 1970), a massa da semente é dividida entre os embriões extranumerários, levando à diminuição da quantidade de recursos (massa da semente disponível para todos os embriões) para cada um dos embriões produzidos por semente.

A idéia que surge a partir desses dados é a de que sementes poliembriônicas teria uma alocação de massa para cada um dos embriões da semente seguindo um modelo de partição explicado por uma função potencial, onde a massa total alocada para os embriões em uma semente seria dividida entre os embriões formados pela semente. O modelo seria o da

alocação de recursos em função de uma equação potencial expressa por: $MIES = a.NES^{-b}$, onde a , intercepto; $MIES$: massa individual do embrião por semente; NES : número de embriões por semente, b : inclinação da equação (Figura 1). O modelo de divisão de massa com ajuste a uma equação potencial foi encontrado para *Eriotheca pubescens* ($MIE = 303,96NES^{-1,0354}$; $R^2 = 0,8262$) por Mendes-Rodrigues *et al.* (2005). Ainda são necessários mais dados de espécies poliembriônicas que permitam generalizar tal idéia.

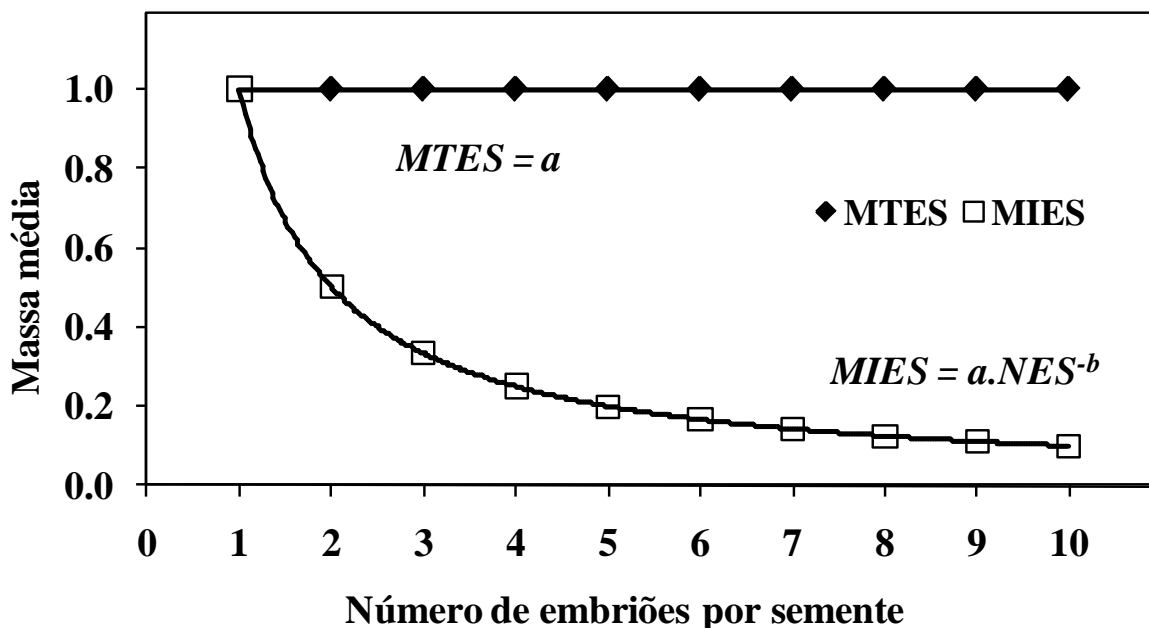


Figura 1. Modelo proposto para a alocação de massa entre sementes e embriões de espécies poliembriônicas. A massa total de embriões por sementes mantém-se constante ($MTES = a$) com o aumento do número de embriões por semente e a massa individual dos embriões por semente diminui seguindo um modelo de equação potencial ($MIES = a.NES^{-b}$). Legenda: $MTES$: massa total de embriões por semente; $MIES$: massa individual de embriões por semente; NES : número de embriões por semente; a : intercepto da equação; b : inclinação da equação.

Apesar da hipótese de que a produção de múltiplos embriões por semente possa gerar vantagens para a semente (ver próxima seção), essa formação dificulta o estabelecimento, sendo facilmente observado pela menor conversão de embriões em plântulas, em sementes poliembriônicas. Espécies poliembriônicas sempre produzem um número menor de plântulas por semente em relação ao número de embriões produzidos por semente, como observado em *Eriotheca pubescens* (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), *Handroanthus chrysotrichus* (Capítulo 6), *Ophiopogon japonicus* (L.f.)Ker-Gawl. (Fukai *et al.* 2000), *Uapaka kirkiana* muell. Arg. (Maliro & Kwapata 2000) e *Opuntia ficus-indica* Mill. (Vélez-Gutiérrez & Rodríguez-Garay 1996). Esses estudos também demonstram que quanto mais ideais forem as condições para o estabelecimento, maior é a taxa de conversão de embriões em plântulas.

5.3.1.2. *Competição entre plântulas* - A produção de embriões menores nas sementes poliembriônicas gera menor vigor das plântulas produzidas, uma vez que o tamanho inicial das plântulas está diretamente correlacionado à massa inicial do embrião (Moles & Westoby 2006). Juntamente com essa redução no vigor das plântulas, a emergência de mais de uma plântula por semente gera competição gemelar (competição entre plântulas de uma mesma semente) dificultando o estabelecimento em comparação com plântulas oriundas de sementes monoembriônicas, como ocorre em *Eriotheca pubescens* (Capítulo 5). Tal competição por nutrientes e espaço pode ser acirrada pela ocorrência de embriões clonais e sexuados na mesma semente, que podem apresentar habilidades diferentes de competição entre si devido às suas diferenças genéticas. Xiang & Roose (1988) encontraram que as plântulas zigóticas em *Citrus* apresentam tamanho menor que as plântulas nucelares, provavelmente devido ao crescimento superior dos embriões nucelares, comparado aos zigóticos em uma mesma semente. O tamanho inicial dos embriões também foi diretamente correlacionado à área foliar das plântulas na espécie poliembriônica *Eriotheca pubescens*, com aumento da sobrevivência das plântulas oriundas de embriões de classes de tamanho maiores (Mendes-Rodrigues *et al.*

2005). Em *Handroanthus chrysotrichus* a altura de plântulas seguiu o modelo de crescimento ajustado a uma equação potencial ($MMP = 5,1313NPS^{-0,50}$; $R^2 = 0,9898$; MMP = massa média da plântula, NPS : número de plântulas por semente; Capítulo 6). Entretanto, em *Vincetoxicum rossicum* (Kleopow) Barbar. (Apocynaceae) foi observado o efeito do número de plântulas por semente na altura das plântulas somente no primeiro ano de crescimento e não foi observado nenhum efeito desse número na massa aérea média das plântulas no final do experimento, embora os tratamentos apresentassem o mesmo número de plântulas por semente no final do experimento (Hotchkiss *et al.* 2008). Esse efeito inicial pode ser transitório, uma vez que em fases posteriores o crescimento pode não ser dependente das reservas iniciais.

Sugere-se que em estudos futuros com plântulas gemelares, o número inicial de plântulas produzidas por semente e a mortalidade das plântulas durante o período de avaliação do experimento devem ser levados em consideração e a partir dessas observações, o padrão de partição de massa entre os embriões e as plântulas gemelares deveria ser determinado. Hotchkiss *et al.* (2008) constataram que o número de plântulas por semente no final do experimento pode ser o mesmo, independente do número de plântulas inicial. Para estudos futuros, que objetivem avaliar o efeito da poliembrião sobre o crescimento de plântulas, recomenda-se a avaliação do número real de plântulas emergidas por semente, sem a predição do número de plântulas por outros métodos e o acompanhamento da mortalidade de todas as plântulas de uma semente, com a exclusão de sementes onde ocorra a mortalidade de uma das plântulas ou a sua adoção como um novo tratamento, por ex., sementes com mortalidade de plântulas gemelares. A mortalidade ou a emergência de uma plântula durante o experimento pode alterar o nível de competição entre as plântulas gemelares e, conseqüentemente, isso poderia mascarar os resultados encontrados no experimento.

5.3.1.3. *Alterações Morfológicas* - A ocorrência de embriões e plântulas com alterações morfológicas tem sido um fator presente em várias espécies poliembriônicas como em *Citrus sinensis*, Rutaceae (Mendes-da-Gloria *et al.*, 2001), várias espécies de *Pinus*, Pinaceae (Clare & Johnstone 1931; Johnstone 1940); *Picea abies* (L.) Karsten., Pinaceae (Hrabí 2001-2002) e *Hieracium* spp., Asteraceae (Koltunow *et al.* 1998; Koltunow *et al.* 2001). As principais alterações morfológicas encontradas em sementes poliembriônicas são o tamanho diferencial entre embriões e plântulas de uma mesma semente, ausência de um dos cotilédones, tamanho diferencial dos cotilédones de um embrião, fusão de embriões ou plântulas e ocorrência de embriões e plântulas rudimentares.

5.3.1.4. *Problemas de Estabelecimento* – Provavelmente a redução da massa dos embriões, a emergência de plântulas menores, e a ocorrência de alterações morfológicas podem acarretar problemas de estabelecimento das plântulas gemelares, que com massa reduzida e competição intra-específica, podem ter reduzida a sua capacidade de responder a fatores bióticos e abióticos. Para sementes monoembriônicas, o tamanho da semente tem uma relação direta com o vigor da plântula produzida, como já demonstrado para várias espécies, embora essa relação possa ser afetada por outros fatores como o tamanho da planta, sua longevidade e o tempo necessário para alcançar a maturidade (Moles & Westoby 2006). Espécies poliembriônicas podem experimentar maior pressão de estabelecimento, uma vez que com a redução de recursos para cada um dos embriões e seu empacotamento em uma única semente, poderia diminuir a chance de cada um para se estabelecer em campo. Informações dessa natureza foram registradas para *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb var. Nonpareil, Rosaceae (Martínez-Gómez & Gradziel 2003). Além da diminuição dos recursos disponíveis na semente para cada embrião, outros fatores podem dificultar a emergência e o estabelecimento, tais como, plântulas incrustadas dentro da testa, emergindo em tempos diferentes, e ainda competição por espaço devido à proximidade entre as plântulas.

5.3.2. *Vantagens da poliembriõnia*

Embora as desvantagens da poliembriõnia possam ser mais facilmente observadas e testadas, poucos estudos têm demonstrado ou avaliado as vantagens da ocorrência de poliembriõnia e o motivo pelo qual muitas espécies amplamente distribuídas adotam esta estratégia. Em função disso, serão discutidas algumas das vantagens de sementes poliembriônicas que poderiam justificar a ocorrência de espécies poliembriônica. A principal vantagem da poliembriõnia estaria no aumento das chances de que pelo menos um embrião por semente sobreviva, embora outras vantagens possam ser também observadas.

5.3.2.1. Compensação reprodutiva - Alguns autores relatam que a ocorrência de processos apomíticos poderiam funcionar como uma forma de compensação reprodutiva no caso do embrião sexual se revelar inviável (Porcher & Lande 2005). A ocorrência da poliembriõnia permitiria à semente que, em caso de problemas com a formação do embrião sexuado, um dos embriões extranumerários pudesse ocupar o lugar do embrião sexuado, permitindo a formação de sementes com embriões viáveis.

A formação de múltiplos zigotos em um óvulo, com a formação de um único embrião maduro na semente, é um fator comum em espécies de Gimnospermas e alguns gêneros de *Qualea* e *Vochysia*, Vochysiaceae (Oliveira 1998; Custódio 2008). Nessas espécies, a ocorrência de poliembriõnia poderia funcionar como um processo que compensaria a perda de algum embrião por má-formação, pela presença de genes letais ou devido à incompatibilidade entre os gametas; ou ainda poderia funcionar como um processo de seleção de zigotos mais aptos ou vigorosos a partir da competição das progênies intra-seminais.

5.3.2.2. Tamanho da ninhada – “Brood size” - O “brood size” em espécies vegetais é definido como o número de sementes produzido por fruto (Uma Shaanker & Ganeshiah

1997), considerando as sementes como monoembriônicas. Muitas espécies investem na redução do “brood size” como uma estratégia de aumentar os recursos para cada uma das sementes, o que poderia conferir maiores vantagens adaptativas para as sementes. Espécies poliembriônicas poderiam compensar a redução do “brood size” com o aumento do número de embriões produzidos por semente. A poliembrionia conferiria uma vantagem à planta mãe, uma vez que aumentaria o número de embriões produzidos com a mesma quantidade de recursos investida (Uma Shaanker & Ganeshaiyah 1997). Mesmo que o número de sementes diminuísse nessas espécies, a poliembrionia aumentaria o número de embriões produzidos por fruto. Modelos teóricos mostraram vantagens para espécies com maior número de progênes em ambientes não-previsíveis (Simons 2007), nos quais espécies apomíticas ou poliembriônicas poderiam ser mais comuns (Asker & Jerling 1992).

A partir de dados de Rodrigues (2005) sabe-se que indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca pubescens* produzem 16,08 embriões por fruto, enquanto os indivíduos poliembriônicos produzem 76,34 embriões por fruto (18,87 sementes por fruto), com um aumento de 3,74 vezes mais embriões produzidos por fruto. A subfamília Bombacoideae apresenta gêneros com elevado número de sementes por fruto, sendo baixo em *Eriotheca* e *Bombacopsis*, os dois gêneros com registros de poliembrionia. Tais informações podem ser evidências de uma compensação da redução do “brood size”, que precisa ser mais bem estudada nesses grupos.

5.3.2.3. Aposta por cobertura - “*Bet hedging*” - Outra vantagem da poliembrionia poderia ser a ocorrência de “bet hedging”, ou seja, o aumento da chance de pelo menos uma plântula se estabelecer no ambiente devido à emergência de mais de uma plântula por semente. Estudos mostram resultados contraditórios para *Vincetoxicum rossicum*. Ladd & Cappuccino (2005) encontraram que sementes que produziam duas ou mais plântulas por semente tinham maior probabilidade de sobreviver do que as sementes que produziam uma

única plântula, apesar de que, em diferentes tratamentos de semeadura, esse efeito não ocorria. Hotchkiss *et al.* (2008), no entanto, demonstraram que o sucesso reprodutivo das sementes com diferentes número de plântulas por semente não diferiam, e que o hábitat era o fator principal na determinação do sucesso reprodutivo, independente do número de plântulas produzidas. Esses estudos indicam que o efeito “bet hedging” pode ser dependente das condições ambientais a que a semente esteja sujeita, não sendo um efeito exclusivo do número de plântulas por semente. Em *Handroanthus chrysotrichus*, observou-se que a chance de uma semente ter pelo menos uma plântula sobrevivente aumenta à medida que o número de plântulas por semente aumenta, enquanto a probabilidade de sobrevivência de cada uma das plântulas diminui à medida que o número de plântulas por semente aumenta (Mendes-Rodrigues *et al.*, em preparação). O efeito de “bet hedging” em sementes poliembriônicas poderia ser considerado como o aumento da chance de pelo menos uma plântula por semente sobreviver, conforme modelo da Figura 2. Em sementes com embriões predominantemente apomíticos, isto representaria aumento no potencial de sobrevivência de um determinado *genet* ou citótipo.

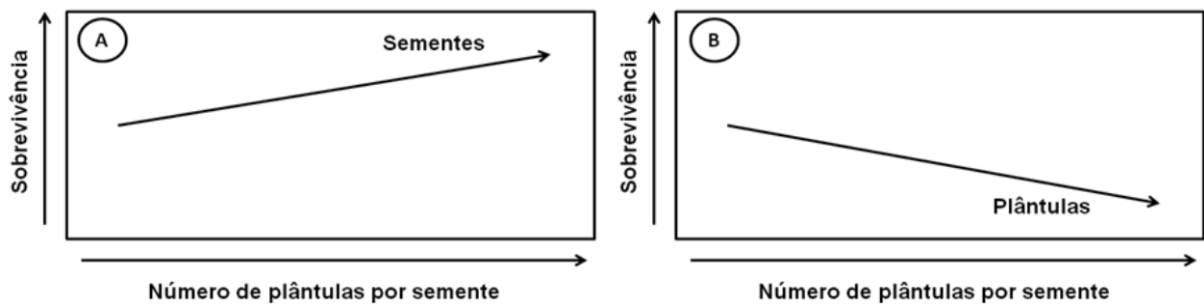


Figura 2. Modelo proposto para o padrão de sobrevivência de sementes e plântulas de espécies poliembriônicas. Com o aumento do número de plântulas por semente ocorre aumento da sobrevivência das sementes (**Figura 2A**) e diminuição da sobrevivência das plântulas (**Figura 2B**).

5.3.2.4. Efeito de Mancha - “*Allee effect*” - Uma das vantagens hipotetizadas para a poliembriõnia consiste na ocorrência do “*allee effect*” (Cappuccino 2004). O “*allee effect*” pode ser descrito como o aumento do sucesso reprodutivo de indivíduos, quando crescem em grupos ao invés de isoladamente. A poliembriõnia poderia favorecer a ocorrência de grupos de indivíduos, uma vez que uma única semente poderia gerar tal agrupamento. Esse agrupamento poderia ocupar mais eficientemente o espaço, melhorar a utilização da rizosfera, aumentar a área de sombreamento, ou excluir outras espécies competidoras, facilitando o estabelecimento e crescimento das plântulas gemelares.

5.4. Fatores associados à poliembriõnia

Muitos fatores que tradicionalmente têm sido associados à ocorrência de apomixia gametofítica (aposporia e diplosporia) também têm sido associados a espécies poliembriônicas, com apomixia esporofítica. Entre estes fatores destacam-se a ocorrência de poliploidia, o padrão de distribuição geográfica, a formação de complexos agâmicos e as características genéticas das populações. Alguns desses fatores e sua relação com espécies poliembriônicas serão abordados.

5.4.1. *Poliploidia* – A maior parte das espécies apomíticas é poliplóide, sendo que espécies que apresentam indivíduos sexuais e assexuais tendem a mostrar os indivíduos sexuais diplóides e os indivíduos assexuais poliplóides (Asker & Jerling 1992, Horandl & Paun 2007). Embora a maior parte desses estudos tenha sido feita para espécies com apomixia gametofítica, algumas espécies poliembriônicas com apomixia esporofítica (embriõnia nucelar) também têm apresentado poliploidia, tais como *Eriotheca pubescens* (Oliveira *et al.* 1992, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), *Handroanthus ochraceus* e *Handroanthus chrysotrichus* (Costa *et al.* 2004, Piazzano 1998). Mais estudos citogenéticos para a confirmação dessa relação em espécies com apomixia esporofítica são necessários.

5.4.2. *Distribuição geográfica* - Espécies apomíticas têm mostrado distribuição geográfica mais ampla, quando comparadas às espécies sexuadas congenéricas. Esse padrão tem sido demonstrado principalmente para espécies com apomixia gametofítica, como em *Taraxacum officinale s.l.*, Asteraceae (Verduijn *et al.* 2004); *Paspalum simplex* Morong ex Britton, Poaceae (Urbani *et al.* 2002); *Crepis* e *Taraxacum* (Richards 1986); *Rubus*, Rosaceae e *Botriochloa*, Poaceae (Asker & Jerling 1992); outras Poaceae (Savidan 1985) e para outros taxa diversos (Mogie 1992). O padrão mais restrito de distribuição geográfica dos indivíduos monoembriônicos (sexuais) em relação aos poliembrionicos (assexuais), em uma mesma espécie, tem recebido menos atenção, embora também tenha sido encontrado em *Eriotheca pubescens* (Capítulo 4).

A exemplo, a maior distribuição geográfica de genótipos de *Rubus pensilvanicus* Poiret (Rosaceae), comparados aos de *Rubus occidentalis* L., é um efeito da dispersão mais eficiente de sementes apomíticas da primeira espécie, o que gera maior área de distribuição do genótipo (Nybom & Schaal 1990). Essa habilidade de maior distribuição dos indivíduos assexuados pode estar associada também à ocorrência de poliploidia nesses indivíduos, que pode gerar vantagens para o estabelecimento e dispersão dessas espécies (Asker & Jerling 1992).

5.4.3. *Formação de complexos agâmicos* - Um aspecto comum em espécies apomíticas é a formação de micro-espécies ou de agamo-espécies (Asker & Jerling 1992). Micro-espécies ou de agamo-espécies são entendidas como linhagens apomíticas com uma distinção morfológica e ecológica comparável aquela exibida por espécies sexuadas, e que apresentem uma constância e estabilidade da linhagem no espaço e no tempo (Hörandl *et al.* 2009). Os complexos agâmicos podem ser entendidos como complexo de espécies, sub-espécies ou micro-espécies que são mantidas no ambiente por reprodução assexuada, com

limites taxonômicos difíceis de definir. A apomixia pode funcionar como um processo de manutenção de novos genótipos que, isolados dos parentais, podem se perpetuar por reprodução assexuada, independentemente de vetores bióticos e abióticos para transferência de pólen e, conseqüentemente, para a fecundação. Algumas espécies poliembriônicas também têm apresentado dificuldades de delimitação taxonômica, como *Eriotheca pubescens* (Robyns 1963), *Handroanthus ochraceus* e *Handroanthus chrysotrichus* (Gentry 1992); provavelmente pela fixação de novos genótipos por reprodução assexuada.

5.4.4. *Variabilidade genética* - Os principais estudos de variabilidade genética de espécies apomíticas têm focado a comparação do padrão de isoenzimas entre espécies com apomixia gametofítica e sexuada como em *Antennaria* (Bayer & Crawford 1986), embora resultados consistentes não tenham sido encontrados (Asker & Jerling 1992). Os estudos atuais têm focado mais sobre o controle genético da apomixia, com foco em espécies com apomixia gametofítica, sendo que revisões sobre o tema podem ser consultadas em Hörandl *et al.* (2007).

Para espécies poliembriônicas, Martins & Oliveira (2003), estudando indivíduos de *Eriotheca pubescens*, encontraram menor variabilidade genética e indivíduos clonais na população, quando comparada com a maior variabilidade genética da espécie sexuada *Eriotheca gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns, que não mostrou a ocorrência de clones na população. A ausência de avaliação do sistema de reprodução e da ocorrência de poliembrião em estudos moleculares pode dificultar a comparação entre a variabilidade genética de espécies poliembriônicas e monoembriônicas.

Por outro lado, sementes poliembriônicas permitiriam a manutenção de genótipos com alta heterozigosidade ou a manutenção do polimorfismo por meio dos embriões adventícios (assexuados) e a possibilidade de estabelecimento de novos genótipos recombinados por meio

dos embriões sexuais, uma vez que na mesma semente podem ocorrer os dois tipos de embrião (Batygina & Vinogradova 2007).

6. Referências Bibliográficas

- ALLEM, A.C. 2003. Optimization theory in plant evolution: an overview of long-term evolutionary prospects in the Angiosperms. *The Botanical Review* 69:225-251.
- ANDRADE-RODRIGUEZ, M., VILLEGAS-MONTER, A., CARRILLO-CASTANEDA, A. & GARCÍA-VELÁZQUEZ, A. 2005. Polyembryony and identification of Volkamerian lemon zygotic and nucellar seedlings using RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39:551-559.
- ASKER, S.E. & JERLING, L. 1992. Apomixis in plants. CRC Press, Boca Raton.
- BASKIN, C.C. & BASKIN, J.M. 1998. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego.
- BASTIANEL, M., SCHWARZ, S.F., COLETTA FILHO, H.D., LIN, L.L., MACHADO, M.A. & KOLLER, O.C. 1998. Identification of zygotic and nucellar tangerine seedlings (*Citrus* spp.) using RAPD. *Genetics and Molecular Biology* 21:123-127.
- BATYGINA, T.B. & VINOGRADOVA, G.Y. 2007. Phenomenon of polyembryony. Genetic heterogeneity of seeds. *Russian Journal of Development Biology* 38:126-151.
- BAYER, R.J. & CRAWFORD, D.J. 1986. Allozyme divergence among five diploid species of *Antennaria* (Asteraceae: Inuleae) and their allopolyploid derivatives. *American Journal of Botany* 73:287-296.
- BHOJWANI, S.S. & BHATNAGAR, S.P. 2008. The embryology of Angiosperms. Vikas Publishing House Pvt Ltd, New Delhi.
- BICKNELL, R.A., LAMBIE, S.C. & BUTLER, R.C. 2003. Quantification of progeny classes in two facultatively apomictic accessions of *Hieracium*. *Hereditas* 138:11-20.

- BOWMAN, K.D., GMITTER JR., F.G. & HU, X. 1995. Relationships of seed size and shape with polyembryony and the zygotic or nucellar origin of *Citrus* spp. seedlings. HortScience 30:1279-1282.
- BUCHHOLZ, J.T. 1932. The embryogeny of *Chamaecyparis obtusa*. American Journal of Botany 19:230-238.
- CAMERON, J.W. & SOOST, R.K. 1979. Sexual and nucellar embryony in F_1 hybrids and advanced crosses of *Citrus* with *Poncirus*. Journal of American Society of Horticultural Science 104:408-410.
- CAPPUCCINO, N. 2004. Allee effect in the invasive alien plant, pale swallow-wort *Vincetoxicum rossicum* (Asclepiadaceae). Oikos 106:3-8.
- CARMAN, J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. Biological Journal of the Linnean Society 61:51-94.
- CLARE, T.S. & JOHNSTONE, G.R. 1931. Polyembryony and germination of polyembryonic coniferous seeds. American Journal of Botany 18:674-683.
- COSTA, M.E., SAMPAIO, D.S., PAOLI, A.A.S. & LEITE, S.C.A.L. 2004. Polyembryony and aspects of embryogenesis in *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). Revista Brasileira de Botânica 27:395-406.
- CUSTÓDIO, L.N. 2008. Poliembrionia em espécies de *Callisthene* Mart. e *Qualea* Aubl. (Vochysiaceae). Monografia de Graduação. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- DOMINGUES, E.T., TEÓFILO SOBRINHO, J., TULMANN NETO, A. & SUGAHARA, V.Y. 1998. Polyembryony in clones of 'Pêra' and other orange varieties. Bragantia 57:251-258.
- DOMINGUES, E.T., TULMANN NETO, A. & TEOFILO SOBRINHO, J. 1999. Pollen viability in sweet orange varieties. Scientia Agricola 56:265-272.

- DUNCAN, E.J. 1970. Ovule and embryo ontogenesis in *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns. *Annals of Botany* 34:677-683.
- FUKAI, S., SHIMOMURA, T. & KONDO, T. 2000. Morphological observation of polyembryony in *Ophiopogon japonicus* (Liliaceae). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 69:614-616.
- GENTRY, A.H. 1992. Bignoniaceae - Part II (Tribe Tecomeae). *Flora Neotropica. Monograph* 25:1-370.
- GOLDENBERG, R. & SHEPHERD, G.J. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. *Plant Systematics and Evolution* 211:13-29.
- GOLDENBERG, R. & VARASSIN, I.G. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiáí, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 24:283-288.
- HARPER, J.L., LOVELL, P.H. & MOORE, K.G. 1970. The shapes and sizes of seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:327-355.
- HÖRANDL, E., GROSSNIKLAUS, U., VAN DIJK, P.J. & F., S.T. 2007. *Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives*. A. R. G. Gantner Verlag, Ruggell, Liechtenstein.
- HÖRANDL, E. & PAUN, O. 2007. Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials and ecology. *In Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives*. (E. Hörandl, U. Grossniklaus, T. Sharbel & P. van Dijk, eds.). Gantner Verlag, Ruggell, Liechtenstein.
- HÖRANDL, E., GREILHUBER, J., KLÍMOVÁ, K., PAUN, O., TEMSCH, E., EMADZADE, K. & HODÁLOVÁ, I. 2009. Reticulate evolution and taxonomic concepts in the *Ranunculus auricomus* complex (Ranunculaceae): insights from analysis of morphological, karyological and molecular data. *Taxon* 58:1194-1215.
- HOTCHKISS, E.E., DITOMMASO, A., BRAINARD, D.C. & MOHLER, C.L. 2008.

- Survival and performance of the invasive vine *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae) from seeds of different embryo number under two light environments. *American Journal of Botany* 95:447-453.
- HRABÍ, L. 2001-2002. Quality and germination of the Norway Spruce seeds *Picea abies* (L.) Karsten. *Acta Universitatis Palackinae Olomucensis Facultas Rerum Naturalium - Biologica* 39–40:7-11.
- JOHANSEN, D.A. 1950. *Plant embryology: Embryogeny of the spermatophyta*. Chronica Botanica Company, Waltham.
- JOHNSTONE, G.R. 1940. Further studies on polyembryony and germination of polyembryonic pine seeds. *American Journal of Botany* 27:808-811.
- KAUR, A., HA, C.O., JONG, K., SANDS, V.E., CHAN, H.T., SOEPADMO, E. & ASHTON, P.S. 1978. Apomixis may be widespread among trees of climax rain forest. *Nature* 271:440-442.
- KIESELBACH, T.A. 1926. False polyembryony in maize. *American Journal of Botany* 13:33-36.
- KOLTUNOW, A.M. 1993. Apomixis: embryo sac and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell* 5:1425-1437.
- KOLTUNOW, A.M., SOLTYS, K., NITO, N. & MCCLURE, S. 1995. Anther, ovule, seed, and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. *Canadian Journal of Botany* 73:1567-1582.
- KOLTUNOW, A.M., JOHNSON, S.D. & BICKNELL, R.A. 1998. Sexual and apomictic development in *Hieracium*. *Sexual Plant Reproduction* 11:213-230.
- KOLTUNOW, A.M., JOHNSON, S.D., LYNCH, M., YOSHIHARA, T. & COSTANTINO, P. 2001. Expression of *rolB* in apomictic *Hieracium piloselloides* Vill. causes ectopic meristems in planta and changes in ovule formation, where apomixis initiates at higher frequency. *Planta* 214:196-205.

- LADD, D. & CAPPUCINO, N. 2005. A field study of seed dispersal and seedling performance in the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum*. *Canadian Journal of Botany* 83:1181-1188.
- LANG, G.A. 1996. Plant dormancy: Physiology, biochemistry and molecular biology. CAB International, London.
- LURO, F., LAIGRET, F., BOVÉ, J. & OLLITRAULT, P. 1995. DNA amplified fingerprinting, a useful tool of determination of genetic origin and diversity analysis in *Citrus*. *HortScience* 30:1063-1067.
- MAHESHWARI, P. 1963. Recent advances in the embryology of angiosperms. Catholic Press, Ranchi.
- MALIRO, M.F.A. & KWAPATA, M.B. 2000. Apomictic embryo development and survival in *Uapaca kirkiana* under in vitro and in vivo seed germination. *Scientia Horticulturae* 83:139-147.
- MARTÍNEZ-GÓMEZ, P. & GRADZIEL, T.M. 2003. Sexual polyembryony in almond. *Sexual Plant Reproduction* 16:135-139.
- MARTINS, R.L. & OLIVEIRA, P.E. 2003. RAPD evidence for apomixis and clonal populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). *Plant Biology* 5:338-340.
- MENDES-DA-GLÓRIA, F.J., FILHO, F.D.A.M. & APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. 2001. Morfologia de embriões nucleares de laranja 'Valência' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Acta Botanica Brasilica* 15:17-25.
- MENDES-RODRIGUES, C., CARMO-OLIVEIRA, R., TALAVERA, S., ARISTA, M., ORTIZ, P.L. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). *Plant Biology* 7:533-540.
- MENDES-RODRIGUES, C.M., RANAL, M. & OLIVEIRA, P.E. 2008. Could seed dormancy and polyembryony explain the success of *Clidemia hirta* (L.) D. Don. (Melastomataceae)? , IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional

- Savanas Tropicais. Embrapa Cerrados, Brasília.
- MENDES-RODRIGUES, C.M., RANAL, M. & SANTANA, D.G.de 2008. Seedling emergence and polyembryony in two species of *Inga* (Mimosaceae). IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Embrapa Cerrados, Brasília.
- MOGIE, M. 1992. The evolution of asexual reproduction in plants. Chapman & Hall, London.
- MOHANA RAO, P.R. 1963. Suspensor polyembryony in *Garrya veatchii* Kell. Current Science 32:468-469.
- MOLES, A.T. & WESTOBY, M. 2006. Seed size and plant strategy across the whole life cycle. Oikos 113:91-105.
- MONDRAGON JACOBO, C. 2001. Verification of the apomictic origin of Cactus Pear (*Opuntia* spp. Cactaceae) seedlings of open pollinated and crosses from Central Mexico. Journal of the Association for Cactus Development 4:49-56.
- MOREIRA, S., GURGEL, J.T.A. & ARRUDA, L.F.D. 1947. Poliembrionia em *Citrus*. Bragantia 7:67-106.
- NAUMOVA, T.N. 1992. Apomixis in Angiosperms: Nucellar and integumentary embryony. CRC Press, Boca Raton.
- NYBOM, H. & SCHAAL, B.A. 1990. DNA "Fingerprints" reveal genotypic distributions in natural populations of blackberries and raspberries (*Rubus*, Rosaceae). American Journal of Botany 77:883-888.
- OLIVEIRA, P.E., GIBBS, P.E., BARBOSA, A.A. & TALAVERA, S. 1992. Constrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. Plant Systematics and Evolution 179:207-219.
- OLIVEIRA, R.C. 1998. Estudos embriológicos e aspectos da morfologia floral em Vochysiaceae. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo.
- OLIVEIRA, A.C.D., GARCIA, A.N., CRISTOFANI, M. & MACHADO, M.A. 2002.

- Identification of citrus hybrids through the combination of leaf apex morphology and SSR markers. *Euphytica* 128:397-403.
- PIAZZANO, M. 1998. Números cromosômicos en Bignoniaceae de Argentina. *Kurtziana* 26:179-189.
- PICHOT, C., FADY, B. & HOCHU, I. 2000. Lack of mother tree alleles in zymograms of *Cupressus dupreziana* A. Camus embryos. *Annales of Forest Science* 57:17-22.
- PICHOT, C., MAÂTAOUI, M.E., RADDI, S. & RADDI, P. 2001. Surrogate mother for endangered *Cupressus*. A rare cypress tree increases its chances by using a clever reproductive strategy. *Nature* 412:39.
- PICHOT, C., LIENS, B., NAVA, J.L.R., BACHELIER, J.B. & MAÂTAOUI, M.E. 2008. Cypress surrogate mother produces haploid progeny from alien pollen. *Genetics* 178:379-383.
- PORCHER, E. & LANDE, R. 2005. Reproductive compensation in the evolution of plant mating systems. *New Phytologist* 166:673-684.
- RAJASEKHARAN, P.E., GANESHAN, S. & THAMIZHARASU, V. 1995. Expression of trifoliolate leaf character in *Citrus limonia* X *Poncirus trifoliata* hybrids through cryostored pollen. *Journal of Horticultural Science* 70:485-490.
- RAMOS, J.D. & PASQUAL, M. 1991. Taxa poliembrionia do porta-enxerto *Citrus limonia* Osbeck cv. cravo em autopolinização, polinização natural e em hibridação controlada com *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Ciência Prática* 15:306-311.
- RAMOS, J.D. & PASQUAL, M. 1991. Determinação da taxa de poliembrionia em limão 'Cravo'. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26:1893-1896.
- RAMOS, J.D. & PASQUAL, M. 1992. Alterações na poliembrionia e identificação do híbrido em sementes de Limão 'Cravo' obtidas de cruzamentos com *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 27:423-427.
- RICHARDS, A.J. 1986. *Plant breeding systems*. George Allen & Unwin, London.

- ROBYNS, A. 1963. Essai de monographie du genre *Bombax* s. l. (Bombacaceae). Bulletin du Jardin Botanique de L'Etat a Bruxelles 33:1-315.
- RODRIGUES, C.M. 2005. Poliembriõnia em espécies de Bombacoideae (Malvaceae sensu lato). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- SALOMÃO, A.N. & ALLEM, A.C. 2001. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. Acta Botanica Brasilica 15:369-378.
- SAVIDAN, Y.H. 1985. Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia. In I Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas. Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas. (M.L.R. Aguiar-Perecin, P.S. Martins & G. Brandel, eds.). Sociedade Brasileira de Genética, Piracicaba, p.37-50.
- SCHMIDT, J.M. & ANTLFINGER, A.E. 1992. The level of agamospermy in a Nebraska population of *Spiranthes cernua* (Orchidaceae). American Journal of Botany 79:501-507.
- SCHNELL, R.J. & KNIGHT JR., R.J. 1992. Frequency of zygotic seedlings from five polyembryonic mango rootstocks. HortScience 27:174-176.
- SIMONS, A.M. 2007. Selection for increased allocation to offspring number under environmental unpredictability. Journal of Evolutionary Biology 20:813-817.
- SINGH, F. & THIMMAPPAIAH, M. 1982. Polyembryony in orchid seeds. Seed Science and Technology 10:29-33.
- SPECHT, E.E., MEISTER, A., KELLER, E.R.J., KORZUN, L. & BÖRNER, A. 2001. Polyembryony in species of the genus *Allium*. Euphytica 121:37-44.
- SWAMY, B.G.L. 1943. Gametogenesis and embryogeny of *Eulophia epidendraea* Fischer. Proceedings of the Indian National Science Academy. Part B 9:59-65.
- TEPPNER, H. 1996. Adventitious embryony in *Nigritella* (Orchidaceae). Folia Geobotanica & Phytotaxonomica 31:323-331.
- TORRES, A.M., SOOST, R.K. & MAU-LOASTOVICKA, T. 1982. *Citrus* isozymes:

- Genetics and distinguishing nucellar from zygotic seedlings. *Journal of Heredity* 73:335-339.
- UMA SHAANKER, R. & GANESHIAIAH, K.N. 1997. Conflict between parents and offspring in plants: predictions, processes and evolutionary consequences. *Current Science* 72:932-939.
- URBANI, M.H., QUARIN, C.L., ESPINOZA, F., PENTEADO, M.I.O. & RODRIGUES, I.F. 2002. Cyto geography and reproduction of the *Paspalum simplex* polyploid complex. *Plant Systematics and Evolution* 236:99–105.
- VÉLEZ-GUTIÉRREZ, C. & RODRÍGUEZ-GARAY, B. 1996. Microscopic analysis of polyembryony in *Opuntia ficus-indica*. *Journal of the Association for Cactus Development* 1:39-48.
- VERDUIJN, M.H., VAN DIJK, P.J. & VAN DAMME, J.M.M. 2004. Distribution, phenology and demography of sympatric sexual and asexual dandelions (*Taraxacum officinale* s.l.): geographic parthenogenesis on a small scale. *Biological Journal of the Linnean Society* 82:205-218.
- WATANABE, H. 1985. F₁ hybrids obtained through the regulation of polyembryony by continuous gamma-irradiation in *Citrus unshiu* cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110:742-744.
- WERPACHOWSKI, J.S., VARASSIN, I.G. & GOLDENBERG, R. 2004. The occurrence of apomixis and parthenocarpy in some subtropical Asteraceae. *Revista Brasileira de Botânica* 27:607-613.
- WICKNESWARI, R., LEE, S.L. & MARIAM, D. 1995. Utility of RAPD markers in detecting genetic variation in multiple seedling of *Hopea odorata* Roxb. (Dipterocarpaceae). *The Malaysia Forester* 58:42-50.
- WILMS, H.J., VAN WENT, J.L., CRESTI, M. & CIAMPOLINI, F. 1983. Adventive embryogenesis in *Citrus*. *Caryologia* 36:65-78.

XIANG, C. & ROOSE, M.L. 1988. Frequency and characteristics of nucellar and zygotic seedlings in 12 *Citrus* rootstocks. *Scientia Horticulturae* 37:47-59.

Capítulo: 2

Frequência de poliembrião em espécies do bioma Cerrado

Resumo: Embora predominem os sistemas de reprodução sexuada entre as plantas lenhosas do bioma Cerrado, estudos recentes têm mostrado crescente número de espécies apomíticas e poliembriônicas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a presença de poliembrião em um número representativo de espécies lenhosas e relacionar sua presença com a ocorrência de apomixia. Foram amostradas sementes de 77 espécies arbóreas ou arbustivas que foram avaliadas quanto à presença de poliembrião, utilizando-se dissecação direta ou germinação e avaliação do número de plântulas formadas. A poliembrião foi observada em 30,30% das espécies avaliadas, sendo que em 6,82% delas o percentual de sementes poliembriônicas (*PSP*) foi acima de 5%. Entre as espécies com poliembrião, houve grande variação no número médio de embriões (1,001 a 3,91) e plântulas (1,001 a 2,37) produzidos por semente. Todas as espécies comprovadamente apomíticas foram poliembriônicas, com *PSP* médio de 35,85%, enquanto aquelas com outros sistemas reprodutivos mostraram *PSP* = 1,38%. A ocorrência de apomixia no cerrado pode estar relacionada a diversos fatores presentes neste bioma como ocorrência de dioicéia, presença de poliploidia e alta representatividade de grupos onde a apomixia é comum, como as Asteraceae, Bignoniaceae, Malvaceae e Melastomataceae. A poliembrião mostrou-se um bom indicador de espécies com apomixia esporofítica quando o *PSP* era maior que 5%, mas nem todas as plantas apomíticas apresentam tal característica. Os dados demonstram que a poliembrião, associada à apomixia, é um processo de reprodução freqüente no Cerrado, e não uma anomalia reprodutiva

Palavras chave: poliembrionia, monoembrionia, reprodução sexuada, apomixia, sistema reprodutivo, savanas neotropicais.

Introdução

Embora a ocorrência de processos sexuais de reprodução, via semente, sejam predominantes em espécies do bioma cerrado (Oliveira & Gibbs 2000), a reprodução assexuada via semente, conhecida como apomixia, vem sendo cada vez mais observada entre as espécies neste bioma (Salomão & Allem 2001). Espécies anteriormente reconhecidas como sexuadas, a exemplo de *Handroanthus ochraceus* (Chamisso) Standley e *Eriotheca gracilipes* (K. Sch.) A. Robyns (Gibbs & Bianchi 1993; Oliveira *et al.* 1992), mostraram populações apomíticas, com poliembrionia, encontrando-se mais de um embrião por semente, originados a partir de embrionia adventícia (Costa *et al.* 2004; Bittencourt Jr. & Semir 2005; Mendes-Rodrigues *et al.* 2005).

Esses processos apomíticos têm se mostrado muito comuns também entre as Angiospermas de forma geral. A última revisão moderna mostrou que 33 das 348 famílias avaliadas apresentaram aposporia e diplosporia e 115 mostraram poliembrionia (Carman 1997). No bioma Cerrado, 14 em 75 espécies estudadas mostraram poliembrionia, indicando a importância dos processos apomíticos (Salomão & Allem 2001). A associação de poliembrionia e apomixia tem sido observada por diversos autores (Naumova 1992; Carman 1997; Pullaiah & Febulaus 2000; Koltunow 2003) e se justifica em virtude da relativa raridade de ocorrência de poliembrionia de origem sexuada (Naumova 1992, Asker & Jerling 1992). É importante notar que esta relação nem sempre é verdadeira e a poliembrionia de origem sexuada foi observada inclusive em espécies de cerrado (Oliveira 1998).

Estudos recentes têm atentado para a importância desses processos apomíticos para a ecologia e evolução de diversos grupos de plantas ou até mesmo para a estruturação das

comunidades vegetais (Allem 2004, Kearney 2003). Muitos padrões ecológicos têm sido associados à apomixia tais como distribuição geográfica mais ampla das espécies apomíticas em comparação com as espécies sexuadas relacionadas (Goldenberg & Sheperd 1998, Savidan 1985), associação com ambientes relativamente recentes e partenocarpia geográfica (Hörandl *et al.* 2008), formação de populações clonais (Martins & Oliveira 2003), ocorrência de indivíduos monoembriônicos/sexuados e poliembriônicos/apomíticos, formando mosaicos reprodutivos numa mesma espécie (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005; Rodrigues 2005; Sampaio 2010).

Num cenário de degradação ambiental e de fragmentação do bioma cerrado, com cerca de 50% de sua área já antropizada (Ratter *et al.* 1997; Klink & Machado 2005), a apomixia e a poliembrionia podem representar alternativas de escape das espécies, frente à diminuição da fauna de polinizadores e do fluxo de pólen, ou ainda a diminuição das populações naturais que inviabilizem a manutenção das espécies via processos sexuais (Schall & Leverich 1996). Mesmo temporariamente, estes processos permitiriam a manutenção dessas espécies no ambiente fragmentado ou durante períodos de degradação, permitindo a persistência e regeneração dessas populações (Allem 2004).

O objetivo deste trabalho é determinar a ocorrência e a frequência de poliembrionia em espécies lenhosas do bioma Cerrado, e verificar a possibilidade de utilização dessas características como indicadores de processos de reprodução assexuada via semente (apomixia). Visa ainda discutir algumas das implicações desses processos na ecologia, diversidade e resiliência frente à perturbação das populações dessas espécies.

Material e Métodos

Área de estudo

A coleta das sementes das espécies foi realizada a partir de indivíduos ocorrentes em

áreas naturais ou em remanescentes do bioma Cerrado na região Sudeste do Brasil. As áreas para a coleta de sementes foram a Reserva do Patrimônio Particular do Clube Caça e Pesca Itororó, município de Uberlândia, Minas Gerais, 48°17'O e 18°55'S, com 68 espécies arbóreo-arbustivas registradas (Appolinario & Schiavini 2002); Estação Ecológica do Panga, município de Uberlândia, Minas Gerais, 48°23'O e 19°09'S, com 107 espécies arbóreas (Costa & Araújo 2001, Paiva *et al.* 2007, Lopes & Schiavini 2009); Vale do Rio Araguari (Pau Furado), 48°07'O e 18°48'S, município de Araguari, Minas Gerais; com ca. 64 espécies arbóreas (Siqueira *et al.* 2009).

Amostragem e avaliação da poliembrionia

Foram amostradas 77 espécies lenhosas (arbustivas ou arbóreas), provenientes de 56 gêneros e 29 famílias. As coletas foram realizadas no período de 2005 a 2009 e dependeram da disponibilidade de sementes. Foram coletadas no mínimo 50 sementes de pelo menos cinco indivíduos para cada espécie. A presença de poliembrionia foi avaliada utilizando-se dois métodos diferentes, sendo a espécie considerada como poliembriônica quando pelo menos em um dos métodos foi encontrada poliembrionia.

O primeiro método foi a dissecação das sementes, onde as sementes previamente embebidas em água destilada e ou fixadas em álcool 70%, foram dissecadas com o auxílio de estereomicroscópio, sendo avaliado o número de embriões por semente. O segundo método foi a observação da emergência de plântulas, adotado para algumas espécies onde não foi possível avaliar a poliembrionia pela dissecação da semente. Para isto as sementes foram semeadas individualmente em bandejas multicelulares de poliestireno expandido preenchidas com substrato comercial tipo Plantmax[®] misturado com vermiculita na proporção 1:1. Após a emergência das plântulas foi quantificada o número de plântulas oriundos de cada uma das sementes. A emergência de mais de uma plântula por semente (plântulas gemelares) foi utilizada como indicador de poliembrionia.

A partir da contagem do número de embriões por semente ou o número de plântulas por semente, foram calculados a porcentagem de sementes poliembriônicas ($PSP = NPS / NTS \cdot 100$; PSP : porcentagem de sementes poliembriônicas, NPS : número de sementes poliembriônicas, NTS : número total de sementes avaliadas) e o número médio de embriões por semente para cada espécie ($NMES = \sum ne / ns$; $NMES$: número médio de embriões por semente, ne : número de embriões, ns : número de sementes avaliadas). De maneira similar também foi calculado o número médio de plântulas por semente ($NMPS$), para as espécies avaliadas pelo método de emergência de plântulas. Para uma análise mais ampla, foram incluídas as espécies já estudadas para a presença de poliembrião por Salomão & Allem (2001); aumentando a amostra de 77 espécies para 152 espécies.

Dados sobre o sistema reprodutivo foram compilados da literatura para o maior número de espécies possível. Baseados nesses dados, as espécies foram classificadas em quatro grupos: (1) Apomíticas, foram aquelas para as quais foram encontrados registros de algum tipo de apomixia, independente do sistema de reprodução presente na espécie. As espécies sexuadas foram classificadas em (2) auto-incompatíveis e (3) autocompatíveis, sendo que as espécies que apresentavam populações com os dois tipos de sistema de compatibilidade foram retiradas das análises de número médio de embriões e porcentagem de sementes poliembriônicas. Finalmente, as espécies (4) dióicas. A partir desses grupos foram comparadas a frequência de espécies poliembriônicas e a PSP média em cada um dos grupos, sendo que para esta análise foi considerada a maior PSP registrada para cada espécie, independente do método de avaliação. Para as espécies não amostradas nesse estudo, foi utilizada a PSP registrada por Salomão & Allem (2001).

Análise Estatística

As frequências de espécies poliembriônicas e monoembriônicas entre e dentro de cada método de avaliação foram comparadas com o uso do teste de Qui-quadrado. A variação no

NMES e *NMPS* das espécies poliembriônicas foi testada com ANOVA, e as médias foram comparadas entre si com o uso do teste Scott-Knott. As frequências de espécies poliembriônicas e monoembriônicas entre os sistemas reprodutivos foram comparadas com o uso do teste de Qui-quadrado e a *PSP* média com o uso de ANOVA, sendo as médias foram comparadas entre si pelo teste Scott-Knott. Os testes de Qui-quadrado foram realizados no programa BioEstat 5.0 (Aires *et al.* 2007) e a ANOVA e o teste de Scott-Knott no programa SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (Ribeiro-Júnior 2001).

Resultados

Independente do método de amostragem de poliembriõnia, foram avaliadas 77 espécies, e as frequências de espécies poliembriônicas (55,84%) e monoembriônicas (44,16%) não diferiram significativamente $\chi^2 = 1,05$; $P = 0,3051$; Tabela 1). Quando as frequências foram analisadas separadamente, o método de dissecação de sementes mostrou maior frequência de espécies monoembriônicas (65,85%) que poliembriônicas (34,15%) ($\chi^2 = 4,12$; $P = 0,0423$), enquanto o método de emergência de plântulas mostrou a mesma frequência de espécies monoembriônicas (50,00%) e poliembriônicas (50,00%) ($\chi^2 = 0,00$; $P = 1,0000$; Tabela 1).

Com a inclusão das 75 espécies amostradas para a presença de poliembriõnia por Salomão & Allem (2001), que registraram 14 espécies com poliembriõnia (Tabela 2), o número total de espécies analisadas para poliembriõnia subiu para 132 espécies. Essa inclusão permitiu estimar a frequência final de espécies poliembriônicas em 30,30% e a predominância de espécies monoembriônicas (69,70%) para o bioma Cerrado (Tabela 1 e 2, $\chi^2 = 20,48$; $P < 0,0001$).

A partir da ordenação das espécies pelo percentual de sementes poliembriônicas (*PSP*), para cada método de avaliação, as espécies foram separadas em dois padrões de

freqüência de poliembrião (Tabela 1). No primeiro padrão ocorrem espécies com freqüência de poliembrião alta ($PSP > 5\%$) e no segundo ocorrem espécies com freqüência de poliembrião baixa ($PSP < 5\%$). O método de dissecação de sementes mostrou seis espécies com freqüência de poliembrião maior que 5% (14,63% do levantamento) e oito com freqüência de poliembrião menor que 5% (19,51% do levantamento), enquanto o método de emergência de plântulas mostrou seis espécies com freqüência de poliembrião maior que 5% (11,54% do levantamento) e 20 com freqüência de poliembrião menor que 5% (38,46% do levantamento) (Tabela 1). Quando as 132 espécies foram ordenadas independentemente do método de avaliação, sendo adotada a maior PSP registrada para cada espécie, 6,82% das espécies mostraram $PSP > 5\%$, 23,48% das espécies mostraram $PSP < 5\%$ e 69,70 mostraram ausência de poliembrião.

As freqüências de espécies com monoembrião e com poliembrião, entre as 60 com registro de sistema reprodutivo, foram diferentes entre as espécies apomíticas, dióicas, autocompatíveis e auto-incompatíveis ($\chi^2 = 14,01$; $g.l. = 3$; $P = 0,0029$; Tabela 3). Todas as nove espécies apomíticas mostraram a presença de poliembrião, sendo que os demais sistemas reprodutivos mostraram freqüências de espécies poliembriônicas similares, na faixa de na faixa de 30%. Quando as espécies apomíticas foram retiradas da análise, os demais sistemas reprodutivos mostraram a mesma freqüência de espécies com monoembrião e poliembrião ($\chi^2 = 0,18$; $g.l. = 2$; $P = 0,9130$). Os sistemas reprodutivos também mostraram diferenças na PSP ($F_{3;22} = 4,65$; $P = 0,0115$), sendo que as espécies apomíticas apresentaram o maior valor de PSP (35,85%), e os demais sistemas reprodutivos mostraram valores muito baixos para a PSP (média geral 1,38%, Figura 1; Tabela 3).

O número médio de embriões por sementes ($NMES$) variou amplamente entre as espécies poliembriônicas ($F_{13;5172} = 573,52$; $P < 0,0001$). A espécie com maior $NMES$ foi *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns com $3,91$ embrião.semente⁻¹, enquanto a com menor foi *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn. ($1,001$ embrião.semente⁻¹). A partir da

comparação de todas as médias foram formados seis grupos para o *NMES* com Grupo 1 = 3,91; Grupo 2 = 3,49; Grupo 3 = 2,17; Grupo 4 = 1,26-1,29; Grupo 5 = 1,13 e Grupo 6 = 1,00-1,02 embrião.semente⁻¹. Dentre essas espécies, a que apresentou a maior *PSP* foi *Bombacopsis glabra* (95,76%) e a menor foi *Senna macranthera* (0,09%) (Tabela 1)

A ocorrência de plântulas gemelares, plântulas oriundas de sementes poliembriônicas, pelo método de emergência de plântulas, encontrou 26 espécies com gemelaridade; com a presença de variação no *NMPS* entre as espécies poliembriônicas ($F_{25;12930} = 336,84$; $P < 0,0001$). A espécie com maior *NMPS* foi *Eriotheca pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott & Endl., com 2,37 plântula.semente⁻¹, e a com menor foi *Ouratea spectabilis* Engl., com 1,001 plântula.semente⁻¹. A partir da comparação de todas as médias do *NMPS* foram formados seis grupos com Grupo 1 = 2,37; Grupo 2 = 2,06; Grupo 3 = 1,64-1,66; Grupo 4 = 1,36; Grupo 5 = 1,18 e Grupo 6 = 1,00-1,03. Dentre essas espécies, a que apresentou a maior *PSP* foi *Eriotheca pubescens* com 76,84% e a menor foi *Hymenaea courbaril* L. com 0,09% (Tabela 1). O maior número de embriões produzidos por semente foi encontrado para *Bombacopsis glabra* que produziu 14 embriões em uma única semente e a espécie em que emergiu o maior número de plântulas gemelares foi *Eriotheca pubescens*, com a emergência de sete plântulas a partir de uma única semente.

Tabela 1. Amostragem de poliembrionia em espécies do bioma Cerrado, avaliadas pelo método de dissecação de sementes (número de embriões por semente) ou pelo método de emergência de plântulas (número de plântulas emergidas por semente)

Legenda: N: número de sementes amostradas; *NMS*: número médio por semente; EP: erro padrão da média; *NMAX*: número máximo de embriões ou plântulas observado por semente; *PSP*: Porcentagem de sementes poliembrionicas.

¹ Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott. As letras minúsculas se referem à comparação entre o *NMS* para o método de embriões e as maiúsculas a comparação entre o *NMS* para o método de plântulas. Somente foram incluídas populações poliembrionicas nos testes.

Família	Espécie	Método	N	<i>NMS</i>	SK ¹	EP	<i>NMAX</i>	<i>PSP</i> (%)
Anacardiaceae	<i>Astronium fraxinifolium</i> Schott	Embriões	253	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	697	1,007	F	0,003	2	0,72
	<i>Lithraea molleoides</i> Engl.	Embriões	220	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	1335	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Myracrodruon urundeuwa</i> M.Allemao	Embriões	250	1,012	f	0,007	2	1,20
		Plântulas	486	1,010	F	0,005	2	1,03
Apocynaceae	<i>Aspidosperma cylindrocarpum</i> Müll. Arg.	Plântulas	221	1,000		0,000	1	0,00
Asteraceae	<i>Arnica ericoides</i> Less	Embriões	300	1,010	f	0,005	2	1,00
Bignoniaceae	<i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart.	Plântulas	300	1,000		0,000	1	0,00
		<i>Handroanthus avellanadae</i> (Lorentz ex Griseb.) Mattos	Plântulas	346	1,000		0,000	1
	<i>Handroanthus caraiba</i> (Mart.) Mattos	Plântulas	132	1,000		0,000	1	0,00
		<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC) Mattos	Embriões	606	2,177	c	0,045	7
	Plântulas		563	1,660	C	0,030	5	52,04
	<i>Handroanthus ochraceus</i> (Cham.) Mattos	Plântulas	45	1,360	D	0,070	2	35,56
		<i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S. Grose	Embriões	46	1,261	d	0,085	4
	Plântulas		200	1,175	E	0,027	2	17,50
	<i>Jacaranda cuspidifolia</i> Mart.	Plântulas	404	1,007	F	0,006	3	0,50
	<i>Tabebuia roseo-alba</i> (Ridl.) Sand.)	Plântulas	676	1,006	F	0,003	2	0,59
Caesalpiniaceae	<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Plântulas	577	1,002	F	0,002	2	0,17
		<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Plântulas	1173	1,000	F	0,000	2
	<i>Senna macranthera</i> (Collad.) Irwin et Barn.	Embriões	1093	1,001	f	0,000	2	0,09
	<i>Senna sylvestris</i> (Vell.) I. & B	Plântulas	346	1,003	F	0,003	2	0,29
Cecropiaceae	<i>Cecropia pachystachya</i> Trécul	Embriões	128	1,000		0,000	1	0,00
Clusiaceae	<i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.	Plântulas	200	1,000		0,000	1	0,00
		<i>Kielmeyera coriacea</i> Mart. & Zucc.	Embriões	62	1,000		0,000	1
	<i>Kielmeyera grandiflora</i> (Wawra) Saddi	Embriões	200	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Kielmeyera variabilis</i> Mart. & Zucc.	Embriões	50	1,000		0,000	1	0,00
Cochlospermaceae	<i>Cochlospermum regium</i> (Schrank) Pilger	Embriões	62	1,000		0,000	1	0,00
Connaraceae	<i>Rourea induta</i> Planch.	Embriões	40	1,030	F	0,030	2	2,50
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum daphnites</i> Mart.	Embriões	139	1,000		0,000	1	0,00
Euphorbiaceae	<i>Manihot anomala</i> Pohl	Embriões	60	1,000		0,000	1	0,00
Fabaceae	<i>Dipteryx alata</i> Vogel	Plântulas	207	1,000		0,000	1	0,00
		<i>Machaerium aculeatum</i> Raddi.	Plântulas	79	1,000		0,000	1
	<i>Machaerium acutifolium</i> Vogel	Plântulas	45	1,022	F	0,022	2	2,22
	<i>Ormosia arborea</i> Harms	Plântulas	403	1,000	F	0,000	2	0,25
	<i>Platypodium elegans</i> Vogel	Plântulas	213	1,000		0,000	1	0,00
Flaucortiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	Plântulas	448	1,009	F	0,004	2	0,89

Hippocrateaceae	<i>Salacia campestris</i> Walp.	Plântulas	192	1,020	F	0,010	2	2,08
	<i>Salacia crassifolia</i> (Mart.) G.Don	Plântulas	463	1,230	F	0,010	5	1,94
Lecytidaceae	<i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze	Plântulas	454	1,000		0,000	1	0,00
Lythraceae	<i>Diplusodon virgatus</i> Pohl	Embriões	300	1,000		0,000	1	0,00
Malvaceae	<i>Bombacopsis glabra</i> (Pasq.) A. Robyns	Embriões	754	3,910	a	0,070	14	95,76
		Plântulas	84	2,090	B	0,100	5	70,24
	<i>Chorisia speciosa</i> A.St.-Hil.	Embriões	250	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	250	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Eriotheca candolleana</i> (K.Schum.) A.Robyns	Embriões	300	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	300	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Eriotheca gracilipes</i> (K.Schum.) A.Robyns	Embriões	96	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	50	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Eriotheca pubescens</i> Schott & Endl.	Embriões	55	3,491	b	0,258	8	81,82
		Plântulas	177	2,370	A	0,090	7	76,84
	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	Plântulas	989	1,010		0,050	2	1,21
	<i>Pseudobombax longiflorum</i> (Mart. & Zucc.) A.Robyns	Embriões	300	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	300	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Pseudobombax tomentosum</i> (Mart. & Zucc.) A.Robyns	Embriões	300	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	300	1,000		0,000	1	0,00
Melastomataceae	<i>Clidemia hirta</i> D.Don	Embriões	431	1,130	e	0,020	4	12,53
	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	Embriões	662	1,020	f	0,000	2	1,51
	<i>Miconia ferruginata</i> DC.	Embriões	194	1,294	d	0,039	3	24,74
Meliaceae	<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	Plântulas	683	1,000		0,000	1	0,00
Mimosaceae	<i>Acacia polyphylla</i> DC.	Embriões	247	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	67	1,015	F	0,015	2	1,49
	<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	Plântulas	458	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Anadenanthera peregrina</i> (L.) Speg.	Plântulas	305	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.	Embriões	218	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	Embriões	100	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	785	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd.	Plântulas	588	1,642	C	0,039	6	41,33
	<i>Inga sessilis</i> (Vell.) Mart.	Plântulas	143	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Piptadenia gonoacantha</i> (Mart.) J.F.Macbr.	Embriões	125	1,000		0,000	1	0,00
		Plântulas	117	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Plathymenia reticulata</i> Benth.	Plântulas	300	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	Embriões	228	1,000		0,000	1	0,00
Moraceae	<i>Brosimum gaudichaudii</i> Trécul	Plântulas	211	1,000		0,000	1	0,00
Myristicaceae	<i>Virola sebifera</i> Aubl.	Embriões	35	1,000		0,000	1	0,00
Myrtaceae	<i>Campomanesia pubescens</i> O. Berg	Plântulas	809	1,000	F	0,000	2	0,12
	<i>Eugenia calycina</i> Cambess.	Plântulas	689	1,010	F	0,000	2	1,31
	<i>Eugenia heringeriana</i> Mattos	Plântulas	147	1,030	F	0,020	2	3,40
	<i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	Plântulas	443	1,000	F	0,000	2	0,45
	<i>Mircia</i> sp	Embriões	80	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Psidium cattleianum</i> Weinw.	Plântulas	385	1,000		0,000	1	0,00
Ochnaceae	<i>Ouratea spectabilis</i> Engl.	Plântulas	1058	1,001	F	0,001	2	0,19
Rubiaceae	<i>Coussarea hydrangeifolia</i> (Benth.) Müll.Arg.	Embriões	50	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Genipa americana</i> L.	Embriões	132	1,020	f	0,010	2	1,69
		Plântulas	1188	1,000	F	0,000	2	0,25
Tiliaceae	<i>Luehea divaricata</i> Mart.	Plântulas	100	1,000		0,000	1	0,00
Velloziaceae	<i>Vellozia flavicans</i> Mart.	Plântulas	1133	1,000		0,000	1	0,00
Verbenaceae	<i>Aegiphila lhotzkiana</i> L.	Embriões	200	1,000		0,000	1	0,00
Vochysiaceae	<i>Callisthene fasciculata</i> Mart.	Embriões	447	1,002	f	0,002	2	0,22
	<i>Callisthene major</i> Mart.	Embriões	176	1,006	f	0,006	2	0,57
	<i>Qualea grandiflora</i> Mart.	Embriões	467	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Qualea multiflora</i> Mart.	Embriões	393	1,000		0,000	1	0,00
	<i>Qualea parviflora</i> Mart.	Embriões	351	1,000		0,000	1	0,00

Tabela 2. Espécies do bioma Cerrado amostradas por Salomão & Allem (2001) para a ocorrência de poliembriõnia, incluídas nas análises do presente estudo.

Família	Espécie	Embriõnia	Porcentagem de sementes poliembriônicas (%)
Anacardiaceae	<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Monoembriônica	0
	<i>Tapirira guianensis</i> Aublt.	Poliembriônica	2,00
Apocynaceae	<i>Aspidosperma discolor</i> A. DC	Monoembriônica	0
	<i>Aspidosperma macrocarpum</i> Mart.	Monoembriônica	0
	<i>Aspidosperma parvifolium</i> A. DC	Monoembriônica	0
	<i>Hancornia speciosa</i> Gomez	Poliembriônica	5,00
Bignoniaceae	<i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Martius.	Monoembriônica	0
	<i>Jacaranda brasiliana</i> Pers.	Monoembriônica	0
	<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart.) Standl.	Monoembriônica	0
	<i>Zeyheiria</i> sp.	Monoembriônica	0
Bixaceae	<i>Bixa orellana</i> L.	Monoembriônica	0
Boraginaceae	<i>Cordia glabrata</i> (Mart.) A. DC.	Monoembriônica	0
Burseraceae	<i>Commiphora leptophloeos</i> (Mart.) J.B.Gillett	Poliembriônica	2,00
Caesalpiniaceae	<i>Apuleia leiocarpa</i> J.F.Macbr.	Monoembriônica	0
	<i>Bauhinia longifolia</i> D.Dietr.	Monoembriônica	0
	<i>Chamaecrista desvauxii</i> (Collad.) Killip	Monoembriônica	0
	<i>Peltogyne confertiflora</i> Benth.	Monoembriônica	0
	<i>Sclerolobium paniculatum</i> Vogel	Monoembriônica	0
	<i>Senna</i> sp.	Monoembriônica	0
Chrysobalanaceae	<i>Licania</i> sp.	Monoembriônica	0
Combretaceae	<i>Buchenavia tomentosa</i> Eichler	Monoembriônica	0
	<i>Terminalia actinophylla</i> Mart.	Monoembriônica	0
	<i>Terminalia argentea</i> Mart.	Monoembriônica	0
Ebenaceae	<i>Diospyros sericea</i> A. DC.	Monoembriônica	0
Euphorbiaceae	<i>Mabea piriri</i> Aubl.	Monoembriônica	0
Fabaceae	<i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C.Sm.	Monoembriônica	0
	<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth	Monoembriônica	0
	<i>Machaerium angustifolium</i> Vogel	Monoembriônica	0
	<i>Ormosia fastigiata</i> Tul.	Monoembriônica	0
	<i>Pterodon emarginatus</i> Vogel	Monoembriônica	0
Hippocrateaceae	<i>Salacia</i> sp.	Monoembriônica	0
Lythraceae	<i>Lafoensia pacari</i> A.St.-Hil.	Monoembriônica	0
	<i>Physocalymma scaberrimum</i> Pohl	Monoembriônica	0
Malpighiaceae	<i>Byrsonima basiloba</i> A.Juss.	Poliembriônica	3,00
Malvaceae	<i>Helicteres corylifolia</i> Nees & Mart.	Monoembriônica	0
	<i>Sterculia striata</i> A.St.-Hil. & Naudin	Monoembriônica	0
Mimosaceae	<i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan	Monoembriônica	0
	<i>Enterolobium gummiferum</i> J.F.Macbr.	Monoembriônica	0
	<i>Inga cylindrica</i> (Vell.) Mart.	Monoembriônica	0
	<i>Inga ingoides</i> (Rich.) Willd.	Monoembriônica	0
	<i>Mimosa</i> sp.	Monoembriônica	0
	<i>Stryphnodendron polyphyllum</i> Mart.	Monoembriônica	0
Monimiaceae	<i>Siparuna guianensis</i> Aublt.	Monoembriônica	0
Myrtaceae	<i>Campomanesia adamantium</i> Blume	Monoembriônica	0
	<i>Eugenia dysenterica</i> DC.	Monoembriônica	0
Polygonaceae	<i>Triplaris gardneriana</i> Wedd.	Monoembriônica	0
Rhamnaceae	<i>Zizyphus joazeiro</i> Mart.	Poliembriônica	2,00
Rubiaceae	<i>Guettarda pohliana</i> Müll.Arg.	Monoembriônica	0
	<i>Palicourea rígida</i> Kunth	Monoembriônica	0
	<i>Tocoyena formosa</i> K.Schum.	Monoembriônica	0
Sapindaceae	<i>Magonia pubescens</i> A.St.-Hil.	Poliembriônica	3,00
	<i>Sapindus saponaria</i> L.	Monoembriônica	0
	<i>Talisia cf. esculenta</i> Radlk.	Monoembriônica	0
Styracaceae	<i>Styrax camporum</i> Pohl	Monoembriônica	0
Tiliaceae	<i>Apeiba tibourbou</i> Aubl.	Monoembriônica	0

Tabela 3. Sistema reprodutivo para algumas das espécies do Bioma Cerrado amostradas para a presença de poliembrionia.

Legenda: A: apomixia, D: dioícia, AI: autoincompatibilidade, AC: autocompatibilidade.

Família	Espécie	Sistema Reprodutivo	Fonte
Anacardiaceae	<i>Astronium fraxinifolium</i>	A, D	Allem 1991
	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	D	Machado <i>et al.</i> 2006
	<i>Tapirira guianensis</i>	D	Lenza & Oliveira 2005
Apocynaceae	<i>Aspidosperma macrocarpum</i>	AI	Oliveira <i>et al.</i> 2004
	<i>Hancornia speciosa</i>	AI	Darrault & Schlindwein 2005
Bignoniaceae	<i>Cybistax anthisyphilitica</i>	AI	Bittencourt Jr. <i>et al.</i> , 2003
	<i>Handroanthus chysotrichus</i>	A, AC, AI	Souza <i>et al.</i> 2005, Bittencourt Jr. & Moraes (2010)
	<i>Handroanthus ochraceus</i>	A, AC, AI	Costa <i>et al.</i> 2004; Gibbs & Bianchi 1993; Bittencourt Jr. & Moraes (2010)
	<i>Handroanthus caraiba</i>	AI	Gibbs & Bianchi 1993
	<i>Handroanthus impetiginosus</i>	AI	Bullock 1985, Bittencourt Jr. & Semir 2005
	<i>Tabebuia roseo-alba</i>	AI	Gandolphi & Bittencourt Jr. 2010
Bixaceae	<i>Bixa orellana</i>	AC	A confirmar
Burseraceae	<i>Commiphora leptophloeos</i>	D	Machado <i>et al.</i> 2006
Caesalpinaceae	<i>Copaifera langsdorfii</i>	AI	Freitas & Oliveira 2002
	<i>Hymenaea courbaril</i>	AI	Bawa 1974
	<i>Sclerolobium paniculatum</i>	AI	Oliveira 1991
	<i>Senna sylvestris</i>	AI	Carvalho & Oliveira 2003
Clusiaceae	<i>Calophyllum brasiliense</i>	D	P.E. Oliveira (observações pessoais)
	<i>Kielmeyera coriacea</i>	AI	Oliveira & Silva 1993
	<i>Kielmeyera grandiflora</i>	AI	Oliveira & Silva 1993
	<i>Kielmeyera variabilis</i>	AI	Barros 2002
Cochlospermaceae	<i>Cochlospermum regium</i>	AI	Barbosa & Sazima 2008
Connaraceae	<i>Rourea induta</i>	AI	Lenza <i>et al.</i> 2008
Ebenaceae	<i>Diospyros sericea</i>	D	P.E. Oliveira (observações pessoais)
Fabaceae	<i>Bowdichia virgiloides</i>	AC	A confirmar
	<i>Dipteryx alata</i>	AI	Oliveira & Sigríst 2008
	<i>Platypodium elegans</i>	AI	Alogamia Hufford & Hamrick 2003
	<i>Pterodon emarginatus</i>	AI	Alogamia Afonso 1997, Rocha 2006
Flacortiaceae	<i>Casearia sylvestris</i>	AC	Barbosa & Sazima 2008
Hippocrateaceae	<i>Salacia campestris</i>	AI	Barbosa & Sazima 2008
Malvaceae	<i>Bombacopsis glabra</i>	A, AC	Baker 1960; Duncan 1970
	<i>Chorisia speciosa</i>	AI	Gibbs & Bianchi 1993
	<i>Eriotheca candolleana</i>	AI	Semir, dados não publicados
	<i>Eriotheca gracilipes</i>	AI	Oliveira <i>et al.</i> 1992
	<i>Eriotheca pubescens</i>	A, AC	Oliveira <i>et al.</i> 1992, Mendes-Rodrigues <i>et al.</i> 2005
	<i>Guazuma ulmifolia</i>	AI	Bullock 1985
Melastomataceae	<i>Clidemia hirta</i>	A	Melo <i>et al.</i> 1999
	<i>Miconia albicans</i>	A	Goldenberg & Sheperd 1998
	<i>Miconia ferruginata</i>	A	Santos 2003
Mimosaceae	<i>Anadenanthera peregrina</i>	AC	Costa <i>et al.</i> 2003
	<i>Dimorphandra mollis</i>	AC	Abreu & Barros 2001
	<i>Stryphnodendron adstringens</i>	AI	Ortiz <i>et al.</i> 2003
Monimiaceae	<i>Siparuna guianensis</i>	D	Bawa <i>et al.</i> 1985
Myristicaceae	<i>Virola sebiferae</i>	D	Lenza & Oliveira 2006
	<i>Campomanesia pubescens</i>	AC, AI	Bórem <i>et al.</i> 2009, Torezan-Silingardi & Del-Claro 1998, Proença & Gibbs 1994
	<i>Eugenia dysenterica</i>	AC	Proença & Gibbs 1994
	<i>Eugenia puniceifolia</i>	AC	Silva & Pinheiro 2009
Ochnaceae	<i>Ouratea spectabilis</i>	AI	P.E. Oliveira (dados não publicados)
Rhamnaceae	<i>Zizyphus joazeiro</i>	AC	Pinheiro <i>et al.</i> 1991
Rubiaceae	<i>Coussarea hydrangeifolia</i>	AI	Pereira 2007
	<i>Genipa americana</i>	A, D	Crestana 1995
	<i>Palicourea rigida</i>	AI	Barbosa & Sazima 2008
	<i>Tocoyena formosa</i>	AI	Saraiva <i>et al.</i> 1996
Styracaceae	<i>Styrax camporum</i>	AI	Saraiva <i>et al.</i> 1988
Veloziaceae	<i>Velozia flavicans</i>	AI	Oliveira <i>et al.</i> 1991
Verbenaceae	<i>Aegiphila lhotzkiana</i>	D	Oliveira 1995
	<i>Callisthene fasciculata</i>	AI	Oliveira 1998
Vochysiaceae	<i>Callisthene major</i>	AI	Oliveira 1998
	<i>Qualea grandiflora</i>	AI	Oliveira 1998
	<i>Qualea multiflora</i>	AI	Oliveira 1998
	<i>Qualea parviflora</i>	AI	Oliveira 1998

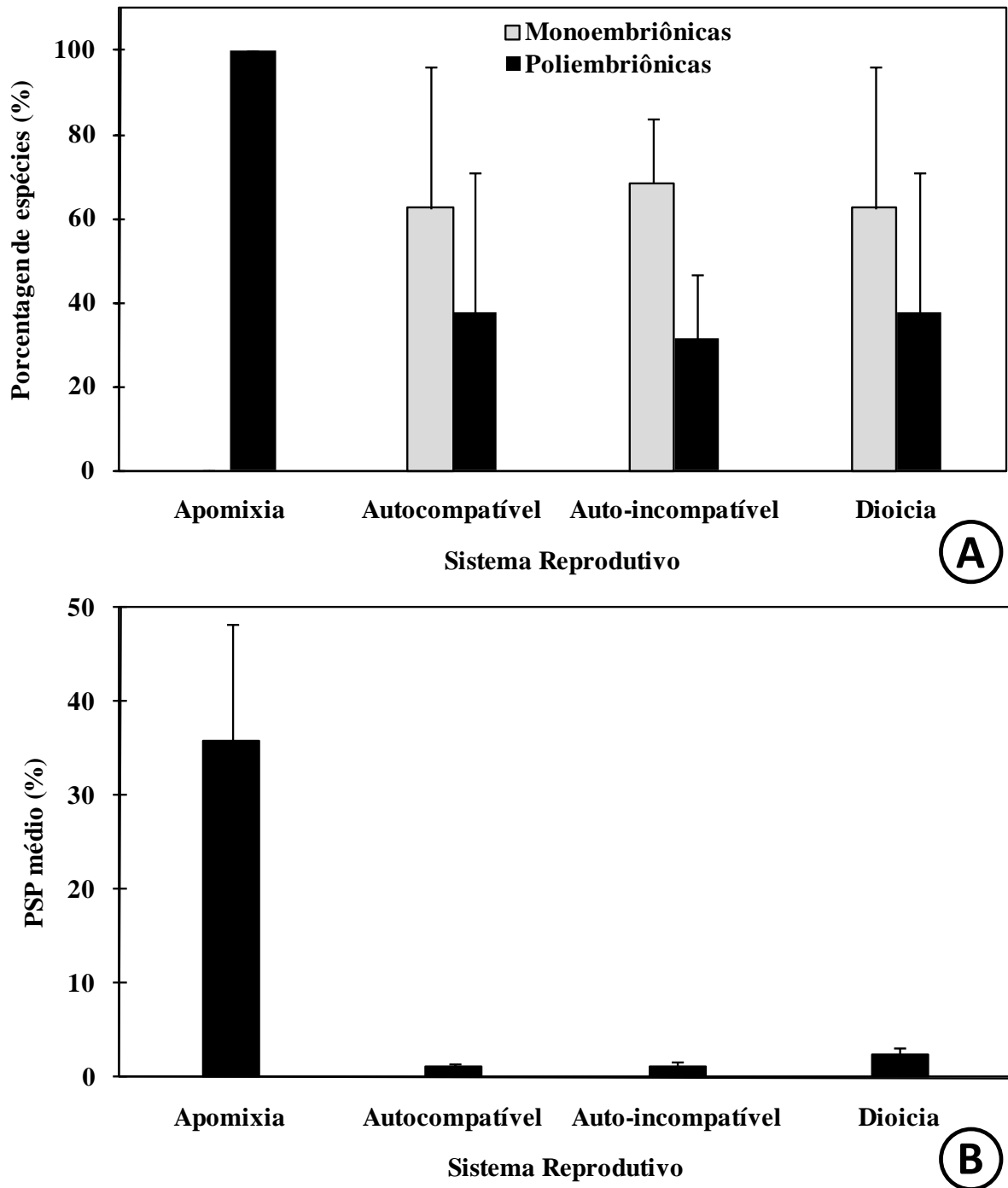


Figura 1. Frequência de espécies monoembriônicas e poliembriônicas; e *PSP* média (Porcentagem de sementes poliembriônicas) para espécies amostradas no Bioma Cerrado apresentando diferentes sistemas reprodutivos. **Fig. 1A:** Frequência de espécies monoembriônicas e poliembriônicas (τ : intervalo de confiança). **Fig. 1B:** *PSP* média (τ : erro padrão) para espécies poliembriônicas.

Discussão

Embora ocorra predominância de espécies monoembriônicas no Cerrado, a ocorrência de 30,30% de espécies poliembriônicas e 6,82% de espécies com poliembriônia alta ($PSP > 5\%$) deixa claro a importância da poliembriônia para a biologia do bioma e de suas espécies. A porcentagem de espécies poliembriônicas encontrada nesta amostra ampliada é inclusive superior àquela de 18,67%, amostrada anteriormente para o cerrado (Salomão & Allem 2001) e próxima aos 33,05% das famílias de Angiospermas como um todo (Carman 1997). Estas diferenças entre os *PSP* indicam que esses percentuais altos para as Angiospermas pode estar baseado em espécies com *PSP* muito baixa, ou até mesmo a presença de uma única semente poliembriônica. A frequência de espécies com $PSP > 5\%$ talvez dê uma ideia melhor das espécies onde realmente a poliembriônia é parte do processo reprodutivo e não um evento esporádico e anômalo em plantas normalmente monoembriônicas.

A taxa de espécies poliembriônicas próxima a 30% também foi encontrada nas Melastomataceae, com ampla variação na *PSP* (Capítulo 3). A grande variabilidade encontrada para o *NMES*, *NMPS* e *PSP* tem sido encontrada para outros grupos como Dipterocarpaceae (Kaur *et al.* 1978) e *Allium* (Specht *et al.* 2001). É interessante que o estudo prévio para o bioma Cerrado não tenha encontrado valores tão altos de *PSP* quanto os encontrados aqui, e uma variação muito mais restrita, entre 1 e 5% para as espécies poliembriônicas (Salomão & Allem 2001). Apesar dessa variação ser relatada em outros estudos, seus fatores causais ainda são desconhecidos, podendo ser efeito da ocorrência de populações monoembriônicas e poliembriônicas em uma mesma espécie, como *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005; Capítulo 5), *Handroanthus* (Sampaio 2010) e *Citrus* (Wilms *et al.* 1983, Domingues *et al.* 1999), pode justificar as grandes diferenças entre os estudos.

Embora freqüente entre as Angiospermas, pouco se sabe sobre o efeito da poliembrionia nas espécies. Muitos autores acreditam que a apomixia/poliembrionia possa servir como um processo de compensação reprodutiva para problemas na reprodução sexuada, servindo como um processo de escape (Porcher & Lande 2005). Poderia funcionar como um processo de compensação também da redução do número de sementes por fruto (Uma-Shaanker & Ganeshiah 1997). A poliembrionia permitiria a coexistência de embriões sexuados e assexuados em uma mesma semente, o que em um novo ambiente implicaria em maiores chances de sobrevivência para um dos dois genótipos (Batygina & Vinogradova 2007). A poliembrionia também conferiria vantagem para efeitos dependentes de densidade dos indivíduos (Cappuccino 2004; Ladd & Cappuccino 2005) e aumento das chances de sobrevivência de pelo menos uma plântula por semente (Ladd & Cappuccino 2005), vantagens essas geradas pela presença de plântulas gemelares. Entre as desvantagens, são conhecidas as anomalias embrionárias (Mendes-da-Glória *et al.* 2001), a diminuição de alocação de recursos para cada um dos embriões (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), a diminuição da conversão de embriões em plântulas (Uma-Shaanker & Ganeshiah 1997) e a competição entre embriões e plântulas de uma mesma semente (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, Hotchkiss *et al.* 2008).

A poliembrionia é normalmente associada nas angiospermas à apomixia (Carman 1997, Batygina & Vinogradova 2007). Apesar de processos sexuados de reprodução serem interpretados como mais vantajosos pela produção de maior variabilidade genética e com isto maiores possibilidades de adaptação, as espécies apomíticas compensariam essa ausência de variabilidade genética com a evolução de genótipos mais gerais, ou seja, capazes de se estabelecer e de se adaptarem em maior gama de ambientes (Bierzychudek 1985). *Pennisetum setaceum* Forsk. Chiov., por exemplo, parece possuir um único genótipo apomítico com distribuição global (Roux *et al.* 2007). Dentre as características das espécies assexuadas que podem propiciar maior adaptação ao ambientes estão a maior capacidade de colonização e a

heterozigose associada à presença de poliploidia nas espécies apomíticas (Bierzychudek 1985).

Muitos fatores podem estar associados à alta frequência de poliembrionia e possivelmente a apomixia entre as espécies do cerrado. A ocorrência de apomixia tem sido associada a ambientes com maior imprevisibilidade (Asker & Jerling 1992); está correlacionada à presença de dioicia e poliploidia (Carman 1997) e a sua frequência em determinados grupos está relacionada a fatores filogenéticos (ex. Goldenberg & Shepherd 1998). As espécies lenhosas do Cerrado estão frequentemente expostas a limitações de disponibilidade de água e nutrientes (Silva *et al.* 2008; Reatto *et al.* 2008), apresentam frequências relativamente elevadas de dioicia (Oliveira 1995), e existe uma alta representatividade de grupos onde a apomixia é muito comum, tais como Melastomataceae (Goldenberg & Sheperd 1998, Goldenberg & Varassin 2001) e Asteraceae (Werpachowski *et al.* 2004), em levantamentos da flora do Cerrado (Ratter *et al.* 2003, Mendonça *et al.* 2008). Dentre esses grupos, a família Melastomataceae tem mostrado porcentagens de espécies poliembriônicas (33,96%) (Capítulo 4) comparáveis às encontradas para o cerrado.

A associação entre poliploidia e apomixia/poliembrionia também parece presente nas espécies aqui amostradas. Das espécies com PSP > 5%, algumas apresentam registros de poliploidia sendo elas *Eriotheca pubescens* (Oliveira *et al.* 1992), *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos, *Handroanthus ochraceus* e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose (Sampaio 2010), *Inga laurina* (Vahl) S. Grose (Hanson 1995) ou paleopoliploidia como *Bombacopsis glabra* (Baker 1960, Duncan 1970).

Os dados de sistema reprodutivo corroboram a idéia de associação de apomixia com poliembrionia, pelo menos para as espécies com frequências altas de poliembrionia (PSP > 5%), já que todas apresentaram apomixia. O mesmo padrão não parece ocorrer em Melastomataceae onde, mesmo espécies com baixas taxas de poliembrionia, como *Miconia albicans* (Sw.) Triana com PSP = 1,51%, apresentam apomixia. Apesar das espécies com PSP

> 5% estarem associadas à apomixia no Bioma Cerrado, em Melastomataceae mesmo $PSP < 5\%$ são associadas à apomixia, já que todas as espécies apomíticas apresentaram poliembrião com PSP variando de 0,18 a 28,13% (Capítulo 3). Uma das alternativas para explicar esses resultados seria a associação entre apomixia esporofítica com $PSP > 5\%$, enquanto as espécies com $PSP < 5\%$ e apomíticas apresentam apomixia gametofítica.

A associação entre apomixia e poliembrião deve ser tratada com cuidado quando as frequências de sementes poliembriônicas são baixas ($PSP < 5\%$). Nesses casos, a poliembrião pode ter origem sexuada, como nas Vochysiaceae (Oliveira 1998) ou apomítica, como nas Melastomataceae (Capítulo 4). Apesar dessas ressalvas, a poliembrião parece ser um bom indicador de apomixia para espécies com apomixia esporofítica, uma vez que as espécies com $PSP > 5\%$, como as Bignoniaceae e Malvaceae têm apomixia esporofítica (Baker 1960, Duncan 1970, Costa *et al.* 2004, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, Souza *et al.* 2005, Bittencourt Jr. & Correa 2010).

No bioma Cerrado, onde a reprodução sexuada parece predominar entre as espécies lenhosas, o presente estudo mostra que a poliembrião é uma característica comum a quase um terço das espécies amostradas. Mesmo que a associação da poliembrião com a apomixia não seja direta em muitos dos casos, as espécies com frequências de sementes poliembriônicas maiores que 5% são consistentemente apomíticas e representam mais de 6% das espécies amostradas. Tais resultados confirmam a importância da apomixia nesses ambientes e a possibilidade da utilização da poliembrião como um indicador da ocorrência desses processos. A poliembrião e apomixia não parecem ser anomalias reprodutivas, mas parecem ser alternativas reprodutivas para certos grupos de angiospermas na região. As consequências em termos da persistência e distribuição dessas espécies podem ser importantes para a ecologia do bioma de uma forma geral.

Agradecimentos

Ao CNPq e a FAPEMIG pelos recursos disponibilizados para a execução do trabalho e a Thiago Ventura de Faria Perdigão, Pedro Paulo Ferreira da Silva, Luciana Nascimento Custódio, Thamy Santos Ribeiro, Marieta Caixeta Dornelles pelo auxílio durante a execução do trabalho. Aos integrantes do Projeto de Resgate de Germoplasma da Hidrelétrica Capim Branco pela permissão e disponibilidade de sementes e plântulas para as análises, dentre estes nominalmente a Ivan Schiavini, Marli Aparecida Ranal, Denise Garcia de Santana e Sérgio Faria Lopes.

Referências Bibliográficas

- ABREU, L.C.R.D. & BARROS, M.A.G.E. 2001. Biologia reprodutiva de *Dimorphandra mollis* Benth, Brasília, DF. 52º Congresso Nacional de Botânica, XXIV Reunião Nordestina de Botânica, João Pessoa, Paraíba, Brasil: 177.
- AFONSO, A.P. 1997. Biologia reprodutiva de *Pterodon pubescens* Benth. e *Pterodon polygaliflorus*. Benth. (Fabaceae – Papilionoideae) em áreas de cerrado do Distrito Federal. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- ALLEM, A.C. 1991. Estudo da biologia reprodutiva de duas espécies florestais (aroeira e gonçalo-alves) da região do cerrado. Pesquisa em andamento 2:1-5.
- ALLEM, A.C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long-term evolutionary prospects in the Angiosperms. *The Botanical Review* 69:225-251.
- APPOLINARIO, V. & SCHIAVINI, I. 2002. Levantamento fitossociológico de espécies arbóreas de cerrado (stricto sensu) em Uberlândia - Minas Gerais. *Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer* 10:57-75.
- ASKER, S.E. & JERLING, L. 1992. Apomixis in plants. 1th ed., CRC Press, Boca Raton.
- AYRES, M., AYRES JR., M., AYRES, D.L. & SANTOS, A.D.A.S.D. 2007. BioEstat:

- Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. 4th ed., Ong Mamiraua, Béliem.
- BAKER, H.G. 1960. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). *American Journal of Botany* 47:296-302.
- BARBOSA, A.A.A. & SAZIMA, M. 2008. Biologia reprodutiva de plantas herbáceo-arbustivas de uma área de campo sujo de Cerrado. *In* Cerrado: ecologia e flora. (S.M. Sano, S.P.d. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p.291-318.
- BARROS, M.A.G.E. 2002. The synchronous flowering and the breeding systems of four species of *Kielmeyera* Mart. (Guttiferae). *Acta Botanica Brasilica* 16:113-122.
- BATYGINA, T.B. & VINOGRADOVA, G.Y. 2007. Phenomenon of polyembryony. Genetic heterogeneity of seeds. *Russian Journal of Developmental Biology* 38:126-151.
- BAWA, K.S. 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28:85-92.
- BAWA, K.S., BULLOCK, S.H., PERRY, D.R., COVILLE, R.E. & GRAYUM, M.H. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *American Journal of Botany* 72:346-356.
- BIERZYCHUDEK, P. 1985. Patterns in plant parthenogenesis. *Experientia* 41:1255-1264.
- BITTENCOURT JR., N.S. 2003. Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- BITTENCOURT JR., N.S. & SEMIR, J. 2005. Late-acting self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). *International Journal of Plant Sciences* 166:493-506.
- BITTENCOURT JR., N.S. & MORAES, C.I.G. 2010. Self-fertility and polyembryony in South American Yellow Trumpet Trees (*Handroanthus chrysotrichus* and *H.*

- ochraceus*, Bignoniaceae): a histological study of post-pollination events. *Plant Systematics and Evolution* 288:59-76.
- BORÉM, R.A.T., REIS, G.H. & CAMPOS, C.C.F. 2009. Biologia reprodutiva de *Campomanesia pubescens* Mart. (Myrtaceae) uma espécie arbustiva dos cerrados do Brasil e sua ocorrência no Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito. *Anais do III Congresso Latino Americano de Ecologia*, São Lourenço, Minas Gerais, Brasil: 1-4.
- BULLOCK, S.H. 1985. Breeding system in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* 17:287-301.
- CAPPUCCINO, N. 2004. Allee effect in the invasive alien plant, pale swallow-wort *Vincetoxicum rossicum* (Asclepiadaceae). *Oikos* 106:3-8.
- CARMAN, J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society* 61:51-94.
- CARVALHO, D.A.D. & OLIVEIRA, P.E.A.M. 2003. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell.) I. & B. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 26:319-328.
- COSTA, A.A. & ARAÚJO, G.M.D. 2001. Comparação da vegetação arbórea de cerradão e de cerrado na Reserva do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. *Acta Botanica Brasilica* 15:63-72.
- COSTA, R.B.D., CONTINI, A.Z. & MELO, E.S.D.P. 2003. Sistema reprodutivo de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg e *Vochysia haenkiana* (Spreng.) Mart. em fragmento de cerrado na Chapada dos Guimarães - MT. *Ciência Rural* 33:305-310.
- COSTA, M.E., SAMPAIO, D.S., PAOLI, A.A.S. & LEITE, S.C.A.L. 2004. Polyembryony and aspects of embryogenesis in *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 27:395-406.
- CRESTANA, C.D.S.M. 1995. Ecologia da polinização de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)

- na Estação Ecológica de Moji-Guaçu, estado de São Paulo. *Revista do Instituto Florestal* 7:169-195.
- DARRAULT, R.O. & SCHLINDWEIN, C. 2005. Limited fruit production in *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) and pollination by nocturnal and diurnal insects. *Biotropica* 37:381-388.
- DOMINGUES, E.T., TULMANN NETO, A. & TEOFILO SOBRINHO, J. 1999. Pollen viability in sweet orange varieties. *Scientia Agricola* 56:265-272.
- DUNCAN, E.J. 1970. Ovule and embryo ontogenesis in *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns. *Annals of Botany* 34:677-683.
- FREITAS, C.V. & OLIVEIRA, P.E. 2002. Biologia reprodutiva de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 25:311-321.
- GANDOLPHI, G. & BITTENCOURT JR., N.S. 2010. Sistema reprodutivo do Ipê-Branco - *Tabebuia roseo-alba* (Ridley) Sandwith (Bignoniaceae). *Acta Botanica Brasilica* 24:840-851.
- GIBBS, P.E. & BIANCHI, M. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility. *Botanica Acta* 106:64-71.
- GOLDENBERG, R. & SHEPHERD, G.J. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. *Plant Systematics and Evolution* 211:13-29.
- GOLDENBERG, R. & VARASSIN, I.G. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 24:283-288.
- HANSON, L. 1995. Some new chromosome counts in the genus *Inga* (Leguminosae : Mimosoideae). *Kew Bulletin* 50:801-804.
- HÖRANDL, E., COSENDAL, A. & TEMSCH, E.M. 2008. Understanding the geographic distributions of apomictic plants: a case for a pluralistic approach. *Plant Ecology &*

- Diversity 1:309-320.
- HOTCHKISS, E.E., DITOMMASO, A., BRAINARD, D.C. & MOHLER, C.L. 2008. Survival and performance of the invasive vine *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae) from seeds of different embryo number under two light environments. *American Journal of Botany* 95:447-453.
- HUFFORD, K.M. & HAMRICK, J.L. 2003. Viability selection at three early life stages of the tropical tree, *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae). *Evolution* 57:518-526.
- KAUR, A., HA, C.O., JONG, K., SANDS, V.E., CHAN, H.T., SOEPADMO, E. & ASHTON, P.S. 1978. Apomixis may be widespread among trees of climax rain forest. *Nature* 271:440-442.
- KEARNEY, M.R. 2003. Why is sex so unpopular in the Australian desert? *Trends in Ecology and Evolution* 18:605-607.
- KLINK, C.A. & MACHADO, R.B. 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation Biology* 19:707-713.
- KOLTUNOW, A.M. 1993. Apomixis: embryo sac and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell* 5:1425-1437.
- LADD, D. & CAPPUCINO, N. 2005. A field study of seed dispersal and seedling performance in the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum*. *Canadian Journal of Botany* 83:1181-1188.
- LENZA, E. & OLIVEIRA, P.E.A.M. 2005. Biologia reprodutiva de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), uma espécie dióica, em mata de galeria do Triângulo Mineiro. *Revista Brasileira de Botânica* 28:179-190.
- LENZA, E. & OLIVEIRA, P.E.A.M. 2006. Biologia reprodutiva e fenologia de *Virola sebifera* Aubl. (Myristicaceae) em mata mesofítica de Uberlândia, MG, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 29:443-451.

- LENZA, E., FERREIRA, J.N., CONSOLARO, H. & AQUINO, F.D.G. 2008. Biologia reprodutiva de *Rourea induta* Planch. (Connaraceae), uma espécie heterostílica de cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Botânica* 31:389-398.
- LOPES, S.F. & SCHIAVINI, I. 2007. Dinâmica da comunidade arbórea de mata de galeria da Estação Ecológica do Panga, Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 21:249-261.
- MACHADO, I.C., LOPES, A.V. & SAZIMA, M. 2006. Plant sexual systems and a review of the breeding system studies in the Caatinga, a Brazilian Tropical Dry Forest. *Annals of Botany* 97:277-287.
- MARTINS, R.L. & OLIVEIRA, P.E. 2003. RAPD evidence for apomixis and clonal populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). *Plant Biology* 5:338-340.
- MELO, G.F., MACHADO, I.C. & LUCENÓ, M. 1999. Reprodución de tres especies de *Clidemia* (Melastomataceae) en Brasil. *Revista de Biología Tropical* 47:359-363.
- MENDES-DA-GLÓRIA, F.J., FILHO, F.D.A.M. & APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. 2001. Morfologia de embriões nucelares de laranja 'Valência' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Acta Botanica Brasilica* 15:17-25.
- MENDES-RODRIGUES, C., CARMO-OLIVEIRA, R., TALAVERA, S., ARISTA, M., ORTIZ, P.L. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). *Plant Biology* 7:533-540.
- MENDONÇA, R.C., FELFILI, J.M., WALTER, B.M.T., SILVA JÚNIOR, M.C.D., REZENDE, A.V., FILGUEIRAS, T.S. & NOGUEIRA, P.E. 2008. Flora vascular do cerrado. *In* Cerrado, ambiente e flora. (S.M. Sano & S.P.d. Almeida, eds.). Embrapa-CPAC, Planaltina, p.289-556.
- NAUMOVA, T.N. 1992. Apomixis in Angiosperms: Nucellar and integumentary embryony. 1th ed., CRC Press, Boca Raton.
- OLIVEIRA, P.E.A.M. 1991. The pollination and reproductive biology of a Cerrado woody

- community in Brazil. Tese de Doutorado, University of St Andrews, St. Andrews.
- OLIVEIRA, P.E.A.M., GIBBS, P.E. & BIANCHI, M. 1991. Pollination and breeding system of *Vellozia squamata* (Liliales:Velloziaceae): A species of The Brazilian Cerrados. *Botanica Acta* 104:392-398.
- OLIVEIRA, P.E., GIBBS, P.E., BARBOSA, A.A. & TALAVERA, S. 1992. Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. *Plant Systematics and Evolution* 179:207-219.
- OLIVEIRA, P.E.A.M. & SILVA, J.C.S. 1993. Reproductive biology of two species of *Kielmeyera* (Guttiferae) in the Cerrados of Central Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 9:67-79.
- OLIVEIRA, P.E.A.M. 1995. Dioecy in cerrado vegetation of Central Brazil. *Flora* 192:235-243.
- OLIVEIRA, R.C. 1998. Estudos embriológicos e aspectos da morfologia floral em Vochysiaceae. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo.
- OLIVEIRA, P.E. & GIBBS, P.E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. *Flora* 195:311-329.
- OLIVEIRA, P.E.A.M., GIBBS, P.E. & BARBOSA, A.A.A. 2004. Moth pollination of woody species in the Cerrados of Central Brazil: a case of so much owed to so few?. *Plant Systematics and Evolution* 245:41-54.
- OLIVEIRA, M.I.B. & SIGRIST, M.R. 2008. Fenologia reprodutiva, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae-Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 31:195-207.
- ORTIZ, P.L.B., ARISTA, M., OLIVEIRA, P.E.A.M. & TALAVERA, S. 2003. Patterns of flower and fruit production in *Stryphnodendron adstringens*, an andromonoecious legume tree of Central Brazil. *Plant Biology* 5:592-599.
- PAIVA, L.V.D., ARAÚJO, G.M.D. & PEDRONI, F. 2007. Structure and dynamics of a

- woody plant community of a tropical semi-deciduous seasonal forest in the “Estação Ecológica do Panga”, municipality of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 30:365-373.
- PEREIRA, Z.V. 2007. Rubiaceae Juss. do Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema, Mato Grosso do Sul: florística, sistema reprodutivo, distribuição espacial e relações alométricas de espécies distílicas. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- PINHEIRO, M.C.B., ORMOND, W.T. & CASTRO, A.C. 1991. Biologia da reprodução e fenologia de *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). *Revista Brasileira de Biologia* 51:143-152.
- PORCHER, E. & LANDE, R. 2005. Reproductive compensation in the evolution of plant mating systems. *New Phytologist* 166:673-684.
- PROENÇA, C.E.B. & GIBBS, P.E. 1994. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. *New Phytologist* 126:343-354.
- PULLAIAH, T. & FEBULAUS, G.N.V. 2000. Embryology and Apomixis in Grasses.th ed., Regency Publishers, New Delhi.
- RATTER, J.A., RIBEIRO, J.F. & BRIDGEWATER, S. 1997. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. *Annals of Botany* 80:223-230.
- RATTER, J.A., BRIDGEWATER, S. & RIBEIRO, J.F. 2003. Analysis of the floristic composition of the Brazilian cerrado vegetation III. Comparison of the woody vegetation of 376 areas. *Edinburgh Journal of Botany* 60:57-109.
- REATTO, A., CORREIA, J.R., SPERA, S.T. & MARTINS, E.D.S. 2008. Solos do bioma Cerrado: aspectos pedológicos. *In* Cerrado: ecologia e flora. (S.M. Sano, S.P.d. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p.107-149.
- RIBEIRO JÚNIOR, J.I. 2001. Análise estatísticas no SAEG. 1th ed., Viçosa - UFV.
- ROCHA, D.M.S. 2006. Aspectos taxonômicos, genéticos e reprodutivos de *Pterodon*

- pubescens* (Benth.) Benth. e *Pterodon emarginatus* Vog. (Leguminosae - Dipteryxaceae). Tese de Doutorado, Universidade de Campinas, Campinas.
- RODRIGUES, C.M. 2005. Poliembryonia em espécies de Bombacoideae (Malvaceae sensu lato). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- ROUX, J.J.L., WIECZOREK, A.M., WRIGHT, M.G. & TRAN, C.T. 2007. Super-genotype: Global monoclonality defies the odds of nature. *Plos ONE* 2:e590.
- SALOMÃO, A.N. & ALLEM, A.C. 2001. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. *Acta Botanica Brasilica* 15:369-378.
- SAMPAIO, D.S. 2010. Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- SANTOS, M.L.D. 2003. Florística e biologia reprodutiva de espécies de Melastomataceae no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas e Parque Estadual dos Pireneus, Goiás. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília.
- SARAIVA, L.C., CESAR, O. & MONTEIRO, R. 1988. Biologia da polinização e sistemas de reprodução de *Styrax camporum* Pohl e *S. ferrugineus* Nees et Mart. (Styracaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 11:71-80.
- SARAIVA, L.C., CESAR, O. & MONTEIRO, R. 1996. Breeding systems of shrubs and trees of a Brazilian Savanna. *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 39:751-763.
- SAVIDAN, Y.H. 1985. Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia. *In* I Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas. Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas. (M.L.R. Aguiar-Perecin, P.S. Martins & G. Brandel, eds.). Sociedade Brasileira de Genética, Piracicaba, p.37-50.
- SCHAAL, B.A. & LEVERICH, W.J. 1996. Molecular variation in isolated plant populations. *Plant Species Biology* 11:33-40.
- SIQUEIRA, A.D.S., ARAÚJO, G.M.D. & SCHIAVINI, I. 2009. Estrutura do componente

- arbóreo e características edáficas de dois fragmentos de floresta estacional decidual no vale do rio Araguari, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 23:10-21.
- SILVA, F.A.M.D., ASSAD, E.D. & EVANGELISTA, B.A. 2008. Caracterização climática do bioma Cerrado. *In* Cerrado: ecologia e flora. (S.M. Sano, S.P.d. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p.69-88.
- SILVA, A.L.G.D. & PINHEIRO, M.C.B. 2009. Reproductive success of four species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Acta Botanica Brasilica* 23:526-534.
- SOUZA, L.A., IWAZAKI, M.C. & MOSCHETA, I. 2005. Morphology of the pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. (Bignoniaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48:407-418.
- SPECHT, E.E., MEISTER, A., KELLER, E.R.J., KORZUN, L. & BÖRNER, A. 2001. Polyembryony in species of the genus *Allium*. *Euphytica* 121:37-44.
- TOREZAN-SILINGARDI, H. & DEL-CLARO, K. 1998. Behaviour of visitors and reproductive biology of *Campomanesia pubescens* (Myrtaceae) in Cerrado vegetation. *Revista Ciência e Cultura* 50:281-284.
- UMA SHAANKER, R. & GANESHIAH, K.N. 1997. Conflict between parents and offspring in plants: predictions, processes and evolutionary consequences. *Current Science* 72:932-939.
- WERPACHOWSKI, J.S., VARASSIN, I.G. & GOLDENBERG, R. 2004. The occurrence of apomixis and parthenocarpy in some subtropical Asteraceae. *Revista Brasileira de Botânica* 27:607-613.
- WILMS, H.J., VAN WENT, J.L., CRESTI, M. & CIAMPOLINI, F. 1983. Adventive embryogenesis in *Citrus*. *Caryologia* 36:65-78.

Capítulo 3

Polyembryony in Melastomataceae from Cerrado: multiple embryos in a small world

Artigo apresentado no formato de submissão da revista Plant Biology.

Polyembryony in Melastomataceae: multiple embryos in a small world

Running head: Polyembryony in Melastomataceae

1. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Caixa Postal 593. Uberlândia - Minas Gerais. CEP 38400-902. Brazil.

*Corresponding Author: Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Caixa Postal 593. Uberlândia-MG. CEP 38400-902. Brazil. E-mail: clesnan@hotmail.com

Phone/FAX (5534) 32182243

Keywords

Apomixis; breeding system; Cerrado; Neotropical savannas; gemelar seedlings; self-compatibility; self-incompatibility.

Abbreviation

MENS: mean embryo number per seed

PPS: percentage of polyembryonic seeds

Abstract

Records of polyembryony in species of different biomes have grown in recent years. Some biomes with predominance of sexual reproduction processes tend to show higher frequency of apomixis/polyembryony than expected. Recent studies in Cerrado, Neotropical savannas in Central Brazil, showed high frequency of apomixis and polyembryony even in groups predominantly known as sexual. In this study, we investigated the occurrence of

polyembryony in 53 species of Melastomataceae, a family already known for its high frequency of apomixis and with broad distribution in Cerrado vegetation. We collected seeds from 69 populations of 53 species in Cerrado Biome areas, and the seeds were sown in germination chambers. After seed germination, the presence and the number of embryos per seed were evaluated. We encountered 18 species with polyembryony (33.96%), and concentrated in species of the tribe Miconieae (64%) followed by Microlicieae (16.67%) and absent in Melastomeae. Polyembryony was correlated with apomixis. Polyembryony was more common among species with broad distribution in Cerrado. The polyembryony associated with apomixis showed Melastomataceae as one group where asexual reproduction could be important for establishment and survival of group in Cerrado Biome

INTRODUCTION

The production of embryos without fertilization and the asexual production of viable seeds, called apomixis (Koltunow 1993), has been recorded widely among the angiosperms (Carman 1997). Adventitious embryony has been the most common process of apomixis among angiosperms and is associated with the occurrence of polyembryony (Carman 1997; Naumova 1992). Some families have shown high frequencies of apomixis, such as Asteraceae and Rosaceae (Czapik 1996; Werpachowski *et al.* 2004), Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998; Goldenberg & Varassin 2001) and Poaceae (Savidan 1985), but the specific apomixis process has been seldom defined.

Melastomataceae is a family of wide distribution in Tropical areas, and important elements in the composition of Brazilian biomes like the Cerrado (Romero & Martins 2002), showing a high number of species worldwide, ca. 4500 (Clausing & Renner 2001), and endemism (Romero & Nakajima 1999). Its seeds are small, many with dormancy as *Rhexia mariana* L. var. *interior* (Pennell) Kral & Bostick (Baskin *et al.* 1999) and *Miconia ferruginata* DC. (Mendes-Rodrigues *et al.* 2010). Amongst the species, many can be

considered invasive species and have been known as alien weeds in some countries, like *Clidemia hirta* (L.) D. (DeWalt & Hamrick 2004) and *Miconia calvescens* DC. (Medeiros & Loope 1997). Their fruits have an important role in biological interactions with frugivorous birds (Ellison *et al.* 1993) and their leaves can present structures associated with mutualism with ants (Moraes & Vasconcelos 2009).

Apomixis has been recorded for different genera of Melastomataceae, such as *Aciotis* and *Maieta* (Renner 1989), *Clidemia* (Melo *et al.* 1999), *Henriettea* (Melo & Machado 1996), *Meriania* (Hokche & Ramírez 2008), *Miconia*, *Leandra* and *Ossaea* (Goldenberg & Varassin 2001), *Microlicia* (Santos 2003), *Pterolepis* (Ramirez & Brito 1990), *Rhexia* (Etheridge & Herr 1968), *Sandemania* (Renner 1987) and *Trembleya* (Souza-Silva 2000). But the types of apomixis present in the Melastomataceae are unknown and the occurrence of polyembryony has been seldom described. There were reports of polyembryony for the genera *Melastoma*, *Sonerila*, *Osbeckia* (Carman 1997), but recent reviews in Cerrado show the occurrence also in *Clidemia* and *Miconia* (Borges 1991; Goldenberg & Shepherd 1998, Mendes-Rodrigues *et al.* 2008).

In this context, the objective of this work was estimate the occurrence of polyembryony in Melastomataceae, in Cerrado species, and try to investigate the relationships between polyembryony and apomixis, phylogeny, species distribution, season of dispersion and type of seed dispersal.

MATERIAL AND METHODS

Studied areas

The fruits of the studied species were collected in Cerrado natural areas and in urban areas. The areas sampled were the Municipal Park of Sabiá, Minas Gerais State – Sabiá (48°14'W and 18°54'S), National Park of Serra of Canastra, Minas Gerais State – Canastra (46°15'W and 20°00'S), State Park of Serra de Caldas Novas, Goiás State – PESCAN

(48°40'W and 17°46'S), The Reserve of the “Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia”, Minas Gerais State – CCPIU (48°17'W and 18°55'S), Panga Ecological Station, Minas Gerais State – Panga (48°23'W and 19°09'S), Bosque John Kennedy, Minas Gerais State – JK (48°11'W and 18°38'S), and inside urban areas of Uberlândia, Minas Gerais State - Uberlândia (48°18'W and 18°59'S). The sample included all species with available number of seed for the tests, and for this reason we included some alien species occurring in the area. The voucher specimens were included in *Herbarium Uberlandense* (HUFU).

Seed collection

Mature fruits were collected directly on the plant. The fruits of different individuals were collect and pooled together for analysis. The seeds of fleshy berries of some groups (Miconieae) were extracted by crushing and washing the pulp in running water. The seeds were subsequently dried on paper towels protected from direct light and maintained at room temperature (± 25 °C), and the residues of the pulp were removed. The capsular fruits (Microlicieae and Melastomeae) were kept inside paper bags until dry and after releasing their seeds. All the dried seeds were kept in paper bags, stored in plastic pots with silica gel at room temperature, until the seed germination experiments. We collected seeds from 53 species, and for some of them we collected seeds from different populations and years, which resulted in 69 different samples. We collected two species of *Svitramia* yet to be described, treated here as *Svitramia* “*alba*” and *Svitramia* “*granulosa*”, names that will be adopted in the taxonomic publication (Rosana Romero, personal communication). The population of *Cambessedesia regnelliana* Cogn. from Serra da Canastra were divided in two distinct samples of individuals with white or orange flowers.

Seed germination

The seeds were sowed on filter paper inside Emanuelli chambers (Figure 1a), a plastic germination humidity chamber (Patent number 014050001201, INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Brazil) filled with distilled water (ca. 20 mL) and kept in a seed germination chamber (Model MDG2000, Seedburo Company, USA) under continuous fluorescent light and controlled temperature of ± 25 °C. Seed germination experiments were installed along the seed collection (Table 1) and seed germination data were not showed here.

Polyembryony evaluation

The germinated seeds were transferred to new chambers of Emanuelli (Figure 1b) and evaluated under stereomicroscope to detect polyembryony and to count the number of seedlings produced. The number of seedlings was used to calculate the percentage of polyembryonic seeds – *PPS* (percentage of polyembryonic seeds = number of polyembryonic seeds divided by the number of seeds evaluated) and to calculate the mean seedling number per seed (*MSNS*). The seeds evaluated did not show apparent embryo mortality, and seedlings could be used as a good estimate of embryo number per seed. For these frequencies we used only the effectively germinated seeds. Due to the size of the seed and its hard testa, seed dissection for direct embryo counting was not practical.

Table 1. Species of Melastomataceae evaluated for the presence and the frequency of polyembryony in Cerrado Biome; dates of collection and part of seed germination experiments and number of collected individuals, seed dispersion season, pattern of distribution, and type of breeding system.

Specie	Population ⁽¹⁾	Seed date of		n° of individuals	season of dispersion	Distribution range	Breeding system, (Ploidy) ⁽²⁾
		collection	experiment				
<i>Acisanthera alsinaefolia</i> (DC.) Triana	Sabiá	21/07/2007	06/09/2007	5	Dry	Ample	
<i>Cambessedesia hilariana</i> (Kunth) DC.	Canastra	27/06/2007	06/09/2007	10	Dry	Ample	SC (23)
	PESCAN	16/07/2007	03/01/2008	4			
<i>Cambessedesia regnelliana</i> Cogn. (Orange flower)	Canastra	05/07/2006	10/08/2006	30	Dry	Restricted	SC
(Orange flower)	Canastra	07/08/2007	04/01/2008	5			
(White flower)	Canastra	07/08/2007	04/01/2008	1			
<i>Chaetostoma pungens</i> DC.	Canastra	16/05/2007	04/07/2007	10	Dry	Ample	
<i>Clidemia bullosa</i> DC	PESCAN	29/02/2008	14/05/2008	01	Wet	Ample	AP (30)
<i>Clidemia capitellata</i> (Bonpl.) D.Don	PESCAN	23/03/2007	07/04/2007	10	Wet	Ample	AP (17)
<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don.	Uberlândia	08/03/2007	16/03/2007	1	Wet	Ample	AP (17)
	JK	14/03/2007	16/03/2007	3			
	PESCAN	29/02/2008	14/05/2008	02			
<i>Desmocelis villosa</i> (Aubl.) Naudin	Sabiá	03/06/2007	04/07/2007	06	Dry	Ample	SC (18)
<i>Dissotis rotundifolia</i> Triana	Uberlândia	03/04/2007	13/04/2007	7	Dry	Ample	- (15)
<i>Lavoisiera insignis</i> DC.	Canastra	28/06/2007	06/09/2007	20	Dry	Ample	
<i>Leandra adenothrix</i> Cogn.	PESCAN	23/03/2007	07/04/2007	10	Wet	Ample	
<i>Leandra aurea</i> (Cham.) Cogn.	Canastra	06/08/2007	04/01/2008	01	Wet	Ample	
	PESCAN	30/03/2008	14/05/2008	10			
<i>Leandra coriacea</i> Cogn.	Canastra	06/08/2007	04/01/2008	06	Dry	Ample	
<i>Leandra erostrata</i> (DC.) Cogn.	Sabiá	02/02/2008	14/05/2008	10	Wet	Ample	
	Canastra	29/03/2007	13/04/2007	8			
<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	Panga	05/10/2007	03/01/2008	30	Wet	Ample	AP (34-48)
	CCPIU	07/11/2007	03/01/2008	15			
	PESCAN	11/12/2007	03/01/2008	15			
<i>Miconia angelana</i> R. Romero & R. Goldenb.	Canastra	17/01/2007	24/01/2007	10	Wet	Restricted	SC
<i>Miconia chamissois</i> Naudin	Sabiá	13/05/2007	04/07/2007	11	Dry	Ample	SI
	PESCAN	09/08/2007	03/01/2008	10			
<i>Miconia cuspidata</i> Mart. ex Naudin	Sabiá	23/06/2007	04/07/2007	3	Dry	Ample	
<i>Miconia elegans</i> Cogn.	Sabiá	03/06/2007	04/07/2007	06	Dry	Ample	SI
	PESCAN	09/08/2007	03/01/2008	06			
<i>Miconia fallax</i> DC.	CCPIU	10/01/2007	02/02/2007	10	Wet	Ample	AP (34)
	Panga	05/12/2007	03/01/2008	15			
<i>Miconia ferruginata</i> DC.	PESCAN	28/03/2003	05/10/2003	10	Wet	Ample	AP
	PESCAN	16/07/2007	04/07/2007	20			
<i>Miconia ibaguensis</i> (Bonpl.) Triana	PESCAN	29/02/2008	14/05/2008	2	Wet	Ample	AP (62)
<i>Miconia ligustroides</i> (DC.) Naudin	Canastra	27/03/2007	13/04/2007	12	Wet	Ample	AP
<i>Miconia pepericarpa</i> DC.	Canastra	30/03/2007	13/04/2007	11	Wet	Ample	SI
<i>Miconia pseudonervosa</i> Cogn.	Sabiá	03/06/2007	04/07/2007	06	Dry	Ample	
<i>Miconia rubiginosa</i> (Bonpl.) DC.	CCPIU	10/01/2007	02/02/2007	6	Wet	Ample	AP (50)
	Canastra	30/03/2007	13/04/2007	10			
<i>Miconia sellowiana</i> Naudin	Sabiá	02/02/2008	14/05/2008	01	Wet	Ample	AP
<i>Miconia stenostachya</i> DC.	CCPIU	10/01/2007	02/02/2007	1	Wet	Ample	AP (26)
	PESCAN	11/12/2007	03/01/2008	11			
<i>Miconia theaezans</i> (Bonpl.) Cogn.	Canastra	29/03/2007	13/04/2007	15	Wet	Ample	SI (17,34)
	Panga	08/03/2007	16/03/2007	6			
<i>Microlicia canastrensis</i> Naudin	Canastra	28/06/2007	06/09/2007	15	Dry	Restricted	
<i>Microlicia helvola</i> (Spreng.) Triana	PESCAN	23/03/2007	07/04/2007	10	Dry	Ample	
<i>Microlicia inquinans</i> Naudin	Canastra	05/07/2006	10/08/2006	12	Dry	Restricted	SC
<i>Microlicia isophylla</i> DC.	Canastra	16/05/2007	03/01/2008	10	Dry	Ample	
<i>Ossaea congestiflora</i> (Naudin) Cogn.	PESCAN	29/02/2008	14/05/2008	5	Wet	Ample	
<i>Ossaea humilis</i> Cogn.	Canastra	07/08/2007	04/01/2008	03	Dry	Ample	
<i>Pterolepis repanda</i> (DC.) Triana	Canastra	16/05/2007	04/07/2007	9	Dry	Ample	
<i>Rhynchanthera dichotoma</i> (Desr.) DC.	Sabiá	23/06/2007	06/09/2007	8	Dry	Ample	SC
<i>Rhynchanthera grandiflora</i> (Aubl.) DC.	Sabiá	03/06/2007	04/07/2007	14	Dry	Ample	SC (20)
<i>Svitramia</i> sp. nov. "alba"	Canastra	07/08/2007	23/11/2007	15	Dry	Restricted	SC
<i>Svitramia</i> sp. nov. "granulosa"	Canastra	27/06/2007	03/01/2008	10	Dry	Restricted	
<i>Svitramia hatschbachii</i> Wurdack	Canastra	05/07/2006	10/08/2006	23	Dry	Restricted	SC
<i>Svitramia minor</i> R. Romero & A. B. Martins	Canastra	05/07/2006	10/08/2006	20	Dry	Restricted	SC
<i>Svitramia wurdachiana</i> R. Romero & A. B. Martins	Canastra	07/08/2007	04/01/2008	1	Dry	Restricted	
<i>Tibouchina aegopogon</i> (Naudin) Cogn. var. <i>aegopogon</i>	Canastra	26/03/2007	13/04/2007	10	Wet	Ample	SI
<i>Tibouchina frigidula</i> (DC.) Cogn.	Canastra	28/06/2007	06/09/2007	2	Dry	Ample	
<i>Tibouchina gracilis</i> (Bonpl.) Cogn.	Canastra	29/03/2007	13/04/2007	10	Wet	Ample	SC
<i>Tibouchina granulosa</i> Cogn.	Uberlândia	19/03/2007	07/04/2007	2	Wet	Ample	
<i>Tibouchina heteromalla</i> (D. Don) Cogn.	Canastra	28/03/2007	13/04/2007	2	Wet	Ample	
<i>Tibouchina pulchra</i> Cogn.	Uberlândia	23/06/2007	06/09/2007	1	Dry	Ample	
<i>Tibouchina villosissima</i> Cogn.	PESCAN	16/07/2007	03/01/2008	10	Dry	Restricted	SC
<i>Tococa guianensis</i> Aubl.	Sabiá	26/10/2007	03/01/2008	16	Wet	Ample	SI (34)
<i>Trembleya parviflora</i> (D. Don) Cogn.	Canastra	16/05/2007	04/07/2007	10	Dry	Ample	AP (22)
<i>Trembleya phlogiformis</i> DC.	Sabiá	31/08/2007	06/09/2007	8	Dry	Ample	

(1) **Population code:** PESCAN: Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (48°39'W; 17°46'S); CCPIU: Reserva Particular do Patrimônio Natural Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (48°17'W; 18°55'S); Canastra: Parque Nacional da Serra da Canastra (46° 15'W; 20° 00'S); Panga: Estação Ecológica Panga (48°23'W; 19°09'S); Sabiá: Parque Municipal do Sabiá (48°14'W; 18°54'S); JK, Parque Municipal John Kennedy (48° 11'W; 18° 38'S) and Uberlândia, cite of Uberlândia, (48°18'W; 18°59'S).

(2) **Breeding system:** SC: self-compatibility; SI: Self-incompatibility; AP: apomixis; **Sources:** Ramirez & Brito 1990, Borges 1991, Saraiva 1996, Guimarães & Ranga 1997, Goldenberg & Shepherd 1998, Melo *et al.* 1999, Souza-Silva 2000, Santos 2003, Fracasso & Sazima 2004, Franco 2007, Hokche & Ramirez 2008, Santos 2008.

Species biology

In the attempt to relate the presence of polyembryony with species biology, we carried out a literature survey and searched for information on breeding system, ploidy, pattern of distribution time and kind of seed dispersal. Each species was defined, based on the collection date, as dispersed during the dry season (seeds collected from April to August) or during the wet season (seeds collected from September to March). The areas were included in climate region characterized as Aw according to the Köppen system, a tropical humid climate with a dry winter (April to August) and rainy summer (September to March) (Rosa *et al.* 1991). The species were classified as anemochorous (Microlicieae and Melastomeae) with dry wind-dispersed seeds and zoochorous (Miconieae) with fresh fruits (berries) dispersed by animals (Table 1). The species were classified in two patterns of distribution as ample (populations at least 1000 Km distant from each other) and restricted (populations restricted to an area of 1000 Km) criterion adopted from Santos (2008).

Statistical Analyses

The *MSNS* was compared with one-way ANOVA and Scott-Knott test for post-hoc comparisons between means using the program SAEG (Ribeiro Júnior 2001); for these analyses we included only polyembryonic populations. The frequency of polyembryonic species in different classifications was compared with Chi-square statistics using the program BioEstat 5.0 (Ayres *et al.* 2007). For all tests was adopted 0.05 of significance.

RESULTS

Among the 53 species analyzed, 18 (33.96%) showed seeds with polyembryony. These species were distributed in six genera (*Chaetostoma*, *Clidemia*, *Leandra*, *Miconia*, *Microlicia* and *Ossaea*), representing 35.29% of the genera analyzed (Tables 2 and 3, Figures 1c-1p). The percentage of polyembryonic seeds (*PPS*) ranged from 0.18% in *Leandra*

erostrata (DC.) Cogn. to 28.13% in *Miconia ibaguensis* (Bonpl.) Triana and the mean seedling number per seed (*MSNS*) ranged from 1.002 in *Leandra erostrata* to 1.346 in *Miconia cuspidata* Naud. (Table 2). The *MSNS* were different between populations in *Clidemia hirta*, *Miconia elegans* Cogn., *Miconia fallax* DC., *Miconia rubiginosa* (Bonpl.) DC., *Miconia stenostachya* DC.; and between years in *Clidemia hirta* and *Miconia ferruginata*. The population of *Leandra erostrata* collected in the Serra da Canastra showed seeds with only monoembryonic seeds which differed from the polyembryonic Sabiá population.

We found different patterns of seedling size emerged from the same seed (although not measured) and no indication of mortality of seedlings in the stages of development analyzed here. It was possible to find a relatively larger seedling associated with a very small seedling (Figure 1c), a relatively larger seedling associated with a medium size seedling (Figure 1d), two seedlings of the same size (Figure 1 l,o,p), a larger seedling associated with several small seedlings (Figure 1i), but their frequency or occurrence was not quantified between species and populations. Associated with these differences in seedlings, we found anomalies as the presence of one or three cotyledons, fused seedlings and higher frequency of very small seedlings as the seedling number per seed increased. The seed frequency with one to five seedlings varied between populations ($\chi^2 = 1313.61$, *d.f.* 112, $P < 0.0001$; Table 4), with the mean seed frequency per population of 87.80 (Range 71.87 to 99.82), 10.65 (Range 0.18 to 24.55), 1.45 (Range 0 to 5.56), 0.08 (Range 0 to 1.15) and 0.01% (Range 0 to 0.33), respectively.

The presence of polyembryony was phylogenetically dependent ($\chi^2 = 19.89$, *d.f.* 2, $P = 0.0001$) with a concentration in the tribe Miconieae where 64% of species were polyembryonic (Figure 2). The frequency of polyembryony in zoochoric species was 64% and for anemochoric species was 7.14% with clear differences for the dispersal type ($\chi^2 = 19.037$, *d.f.* 1, $P < 0.0001$). The frequency of polyembryony in species with fruits dispersed during dry

season was 13.33% while for species with fruits dispersed in wet season was 60.87% ($\chi^2 = 13.117$, *d.f.* 1, $P = 0.0003$). All species with restricted distribution were monoembryonic and 58.14% of species with ample distribution were polyembryonic ($\chi^2 = 6.34$, *d.f.* 1, $P = 0.0118$).

Among the 53 species sampled, 22.64% were apomictic, 26.42% were self-compatible, 11.32% were self-incompatible and 36.62% had unknown breeding system (Table 1). The frequency of polyembryony was dependent on breeding system ($\chi^2 = 26.09$, *d.f.* 3, $P < 0.0001$), even when the species without information for the breeding system were excluded of the analyses ($\chi^2 = 24.53$, *d.f.* 2, $P < 0.0001$). All self-compatible species were monoembryonic, 16.67% of the self-incompatible species were polyembryonic, 91.67% of the apomictic species were polyembryonic and 28.57% of the species without information for breeding system were polyembryonic.

Table 2. Mean seedling number per seed for polyembryonic species of Melastomataceae and the percentage of seeds with polyembryony sampled from 53 species collected in different populations and years in Cerrado Biome, Neotropical savannas, Brazil.

Abbreviations: *MSNS*: mean seedling number per seed; *SK*: results for comparisons between *MSNS* by Scott-Knott test, means followed by the different letter in column are different based on the test; $\alpha = 0.05$; *SD*: standard deviation; *PPS*: percentage of polyembryonic seeds.

Specie	Population	Year	Seed number	<i>MSNS</i>	<i>SK</i>	<i>SD</i>	<i>PPS</i> (%)
<i>Chaetostoma pungens</i>	Canastra	2007	136	1.044	d	0.24	3.68
<i>Clidemia biserrata</i>	PESCAN	2008	689	1.179	b	0.41	16.98
<i>Clidemia capitellata</i>	PESCAN	2007	273	1.088	c	0.28	8.79
<i>Clidemia hirta</i>	Uberlândia	2005	839	1.039	d	0.19	3.93
	Uberlândia	2007	431	1.135	c	0.37	12.53
	PESCAN	2008	835	1.098	c	0.31	9.58
	JK	2007	382	1.264	a	0.49	24.08
<i>Leandra aurea</i>	PESCAN	2008	310	1.016	d	0.15	1.29
<i>Leandra erostrata</i>	Sabiá	2008	549	1.002	d	0.04	0.18
	Canastra	2007	132	1.000		0.00	0.00
<i>Miconia albicans</i>	CCPIU	2007	662	1.015	d	0.12	1.51
	Panga	2007	829	1.018	d	0.13	1.81
	PESCAN	2007	397	1.028	d	0.16	2.77
<i>Miconia cuspidata</i>	Sabiá	2007	523	1.346	a	0.62	28.11
<i>Miconia elegans</i>	PESCAN	2007	337	1.059	d	0.25	5.64
	Sabiá	2007	18	1.222	b	0.55	16.67
<i>Miconia fallax</i>	Panga	2007	86	1.035	d	0.18	3.49
	CCPIU	2007	101	1.267	a	0.51	23.76
<i>Miconia ferruginata</i>	PESCAN	2004	60	1.117	c	0.32	11.67
	PESCAN	2003	194	1.294	a	0.55	24.74
	PESCAN	2007	419	1.320	a	0.61	25.06
<i>Miconia ibaguensis</i>	PESCAN	2008	615	1.311	a	0.54	28.13
<i>Miconia ligustroides</i>	Canastra	2007	48	1.208	b	0.46	18.75
<i>Miconia rubiginosa</i>	CCPIU	2007	215	1.228	b	0.49	19.53
	Canastra	2007	146	1.274	a	0.52	23.97
<i>Miconia selowiana</i>	Sabiá	2008	425	1.007	d	0.08	0.71
<i>Miconia stenostachya</i>	PESCAN	2007	347	1.115	c	0.33	11.24
	CCPIU	2007	172	1.198	b	0.44	18.02
<i>Microlicia helvola</i>	PESCAN	2007	325	1.065	d	0.26	6.15
<i>Ossaea congestiflora</i>	PESCAN	2008	790	1.009	d	0.09	0.89

Population code: PESCAN: Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (048°39'W; 17°46'S); CCPIU: Reserva Particular do Patrimônio Natural Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (48°17'W; 18°55'S); Canastra: Parque Nacional da Serra da Canastra (46°15'W; 20°00'S); Panga: Estação Ecológica Panga (48°23'W; 19°09'S); Sabiá: Parque Municipal do Sabiá (48°14'W; 18°54'S); JK, Parque Municipal John Kennedy (48°11'W; 18°38'S); Uberlândia, cite of Uberlândia (48°18'W; 18°59'S).

Table 3. Monoembryonic species of Melastomataceae sampled from 53 species collected in different populations and years in Cerrado Biome, Neotropical savannas, Brazil.

Specie	Population	Year	Seed number
<i>Acisanthera alsinaefolia</i>	Sabiá	2007	429
<i>Cambessedesia hilariana</i>	Canastra	2007	548
	PESCAN	2007	800
<i>Cambessedesia regnelliana</i> (orange flower)	Canastra	2006	137
(orange flower)	Canastra	2007	176
(white flower)	Canastra	2007	100
<i>Desmoscelis vilosa</i>	Sabiá	2007	393
<i>Dissotis rotundifolia</i>	Uberlândia	2007	397
<i>Lavoisiera insignis</i>	Canastra	2007	232
<i>Leandra adenothrix</i>	PESCAN	2007	364
<i>Leandra aurea</i>	Canastra	2007	81
<i>Leandra coriacea</i>	Canastra	2007	808
<i>Miconia angelana</i>	Canastra	2006	294
<i>Miconia chamissois</i>	PESCAN	2007	712
	Sabiá	2007	642
<i>Miconia pepericarpa</i>	Canastra	2007	340
<i>Miconia pseudonervosa</i>	Sabiá	2007	749
<i>Miconia theaezans</i>	Canastra	2007	441
	Panga	2007	257
<i>Microlicia canastrensis</i>	Canastra	2007	263
<i>Microlicia inquinans</i>	Canastra	2006	61
<i>Microlicia isophylla</i>	Canastra	2007	398
<i>Ossaea humilis</i>	Canastra	2007	77
<i>Pterolepis repanda</i>	Canastra	2007	565
<i>Rhynchanthera dicothoma</i>	Sabiá	2007	381
<i>Rhynchanthera grandiflora</i>	Sabiá	2007	445
<i>Svitramia</i> sp. nov. “granulosa”	Canastra	2007	302
<i>Svitramia hatschbachii</i>	Canastra	2006	86
<i>Svitramia</i> sp. nov. “alba”	Canastra	2006	85
<i>Svitramia wurdackiana</i>	Canastra	2007	50
<i>Tibouchina aegopogon</i>	Canastra	2007	100
<i>Tibouchina frigidula</i>	Canastra	2007	437
<i>Tibouchina gracilis</i>	Canastra	2007	470
<i>Tibouchina granulosa</i>	Uberlândia	2007	26
<i>Tibouchina heteromalla</i>	Canastra	2007	236
<i>Tibouchina pulchra</i>	Uberlândia	2007	99
<i>Tibouchina vilosissima</i>	PESCAN	2007	477
<i>Tococa guianensis</i>	Sabiá	2007	545
<i>Trembleya parviflora</i>	Canastra	2007	216
<i>Trembleya phlogiformis</i>	Sabiá	2007	317

Population code: PESCAN: Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (48°39'W; 17°46'S); Canastra: Parque Nacional da Serra da Canastra (46°15'W; 20°00'S); Panga: Estação Ecológica Panga (48°23'W; 19°09'S); Sabiá: Parque Municipal do Sabiá (48°14'W; 18°54'S); Uberlândia, cite of Uberlândia (48°18'W; 18°59'S).

Table 4. Relative frequency (%) of seeds with different number of seedling per seed, for polyembryonic species of Melastomataceae sampled from 53 species collected in different populations and years in Cerrado Biome, Neotropical savannas, Brazil.

Specie	Population	Year	Embryonic class (seedling number per seed)				
			Singlet (one)	Doublet (two)	Triplet (three)	Tetraplet (four)	Pentaplet (five)
<i>Chaetostoma pungens</i>	Canastra	2007	96.32	2.94	0.74	-	-
<i>Clidemia biserrata</i>	PESCAN	2008	83.02	16.11	0.87	-	-
<i>Clidemia capitellata</i>	PESCAN	2007	91.21	8.79	-	-	-
<i>Clidemia hirta</i>	Araguari	2007	75.92	21.73	2.36	-	-
	Uberlândia	2005	96.07	3.93	-	-	-
	Uberlândia	2007	87.47	11.83	0.46	0.23	-
	PESCAN	2008	90.42	9.34	0.24	-	-
<i>Leandra aurea</i>	PESCAN	2008	98.71	0.97	0.32	-	-
<i>Leandra erostrata</i>	Sabiá	2008	99.82	0.18	-	-	-
<i>Miconia albicans</i>	CCPIU	2007	98.49	1.51	-	-	-
	Panga	2007	98.19	1.81	-	-	-
	PESCAN	2007	97.23	2.77	-	-	-
<i>Miconia cuspidata</i>	Sabiá	2007	71.89	22.75	4.21	1.15	-
<i>Miconia elegans</i>	PESCAN	2007	94.36	5.34	0.30	-	-
	Sabiá	2007	83.33	11.11	5.56	-	-
<i>Miconia fallax</i>	CCPIU	2007	76.24	20.79	2.97	-	-
	Panga	2007	96.51	3.49	-	-	-
<i>Miconia ferruginata</i>	PESCAN	2003	75.26	20.10	4.64	-	-
	PESCAN	2004	88.33	11.67	-	-	-
	PESCAN	2007	74.94	18.85	5.49	0.72	-
<i>Miconia ibaguensis</i>	PESCAN	2008	71.87	24.55	2.93	0.33	0.33
<i>Miconia ligustroides</i>	Canastra	2007	81.25	16.67	2.08	-	-
<i>Miconia rubiginosa</i>	Canastra	2007	76.03	20.55	3.42	-	-
	CCPIU	2007	80.47	16.28	3.26	-	-
<i>Miconia selowiana</i>	Sabiá	2008	99.29	0.71	-	-	-
<i>Miconia stenostachya</i>	CCPIU	2007	81.98	16.28	1.74	-	-
	PESCAN	2007	88.76	10.95	0.29	-	-
<i>Microlicia helvola</i>	PESCAN	2007	93.85	5.85	0.31	-	-
<i>Ossaea congestiflora</i>	PESCAN	2008	99.11	0.89	-	-	-

Population code: PESCAN: Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (48°39'W; 17°46'S);

CCPIU: Reserva Particular do Patrimônio Natural Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia

(48°17'W; 18°55'S); Canastra: Parque Nacional da Serra da Canastra (46°15'W; 20°00'S);

Panga: Estação Ecológica Panga (48°23'W; 19°09'S); Sabiá: Parque Municipal do Sabiá

(48°14'W; 18°54'S); JK, Parque Municipal John Kennedy (48°11'W; 18°38'S); Uberlândia,

city of Uberlândia (48°18'W; 18°59'S).

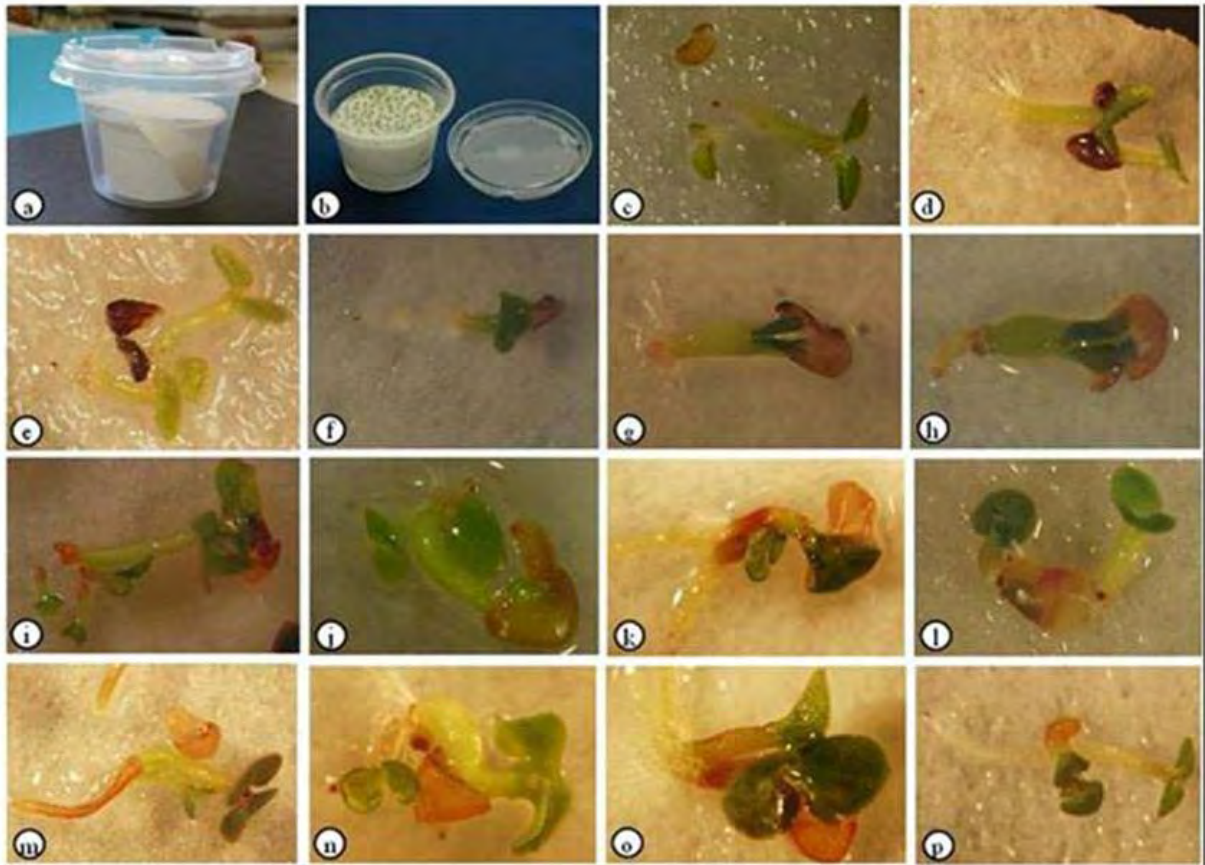


Figure 1. Some seedlings found in survey analyses for polyembryony in Melastomataceae from Cerrado , Brazil. Legend: a: Emanuelli chamber used in seed germination experiments, b: disposition of seedlings in Emanuelli chamber, c-p: seedlings from some polyembryonic species of Melastomataceae; c: *Chaetostoma pungens*, d: *Clidemia capitellata*, e: *Clidemia hirta*, f: *Leandra aurea*, g: *Leandra erostrata*, h: *Miconia albicans*, i: *Miconia cuspidata*, j: *Miconia elegans*, k: *Miconia ferruginata*, l: *Miconia fallax*, m: *Miconia ligustroides*, n: *Miconia rubiginosa*, o: *Miconia stenostachya*, p: *Microlicia helvola*.

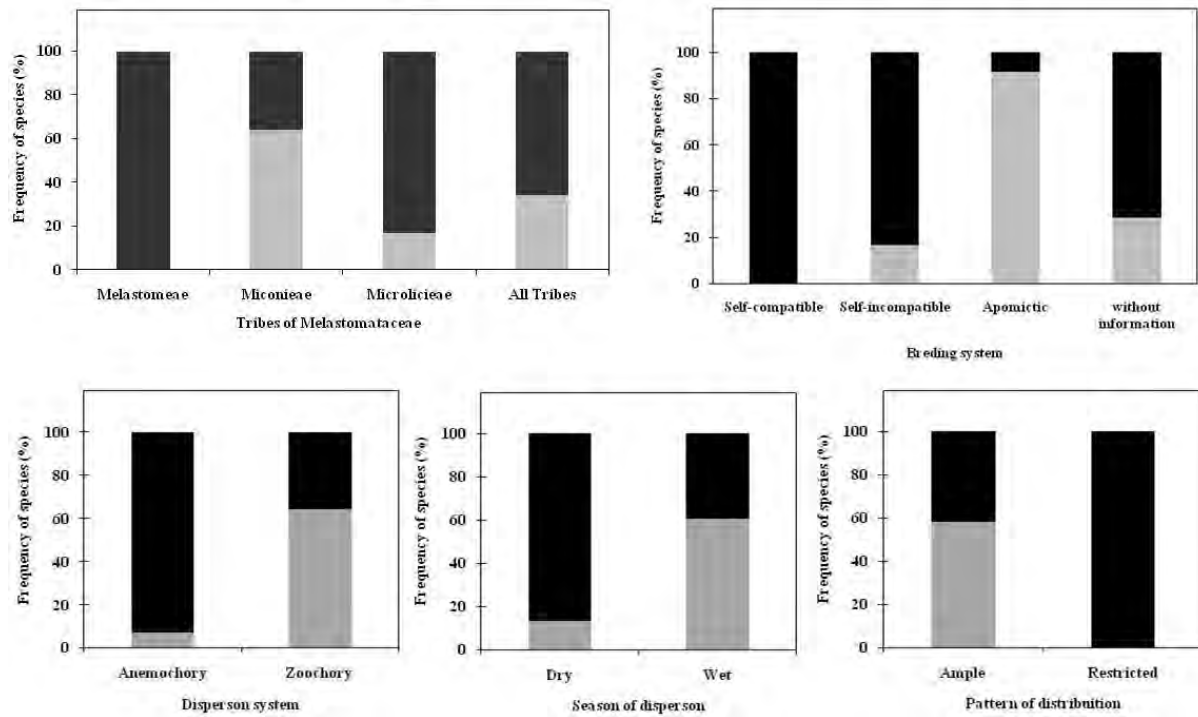


Figure 2. Frequencies of polyembryonic and monoembryonic species of Melastomataceae sampled in the Cerrado biome, Brazil. The 53 species analyzed were classified in different categories. Legend: black bars: monoembryonic species and grey bars: polyembryonic species.

DISCUSSION

Melastomataceae showed a percentage of polyembryonic species of 33.96% higher than the observed for the Cerrado Biome communities, with 18.67-30.30% (Salomão & Allem 2001, Clesnan Mendes-Rodrigues, unpublished results) and *Allium*, with 26.26% (Specht *et al.* 2001) and lower than Malaisyan Dipterocarpaceae, with 77.42% (Kaur *et al.* 1978). The variation in polyembryony levels found in Melastomataceae was similar to the observed for other polyembryonic species in the Cerrado and elsewhere. Variation in the mean embryo number per seed were found for different individuals (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), years (Schmidt & Antlfinger 1992) and taxa (Moreira *et al.* 1947). The PPS for *Allium* species also varied from 0.075 to 32% (Specht *et al.* 2001) and from 2 to 98% for the Dipterocarpaceae species (Kaur *et al.* 1978).

The seedling size asymmetry found in Melastomataceae is common in other polyembryonic groups, e.g. *Hieracium* (Koltunow *et al.* 1998), and can reflect the embryo size asymmetry and anomalies in polyembryonic seeds (Mendes-da-Glória *et al.* 2001, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005). The number up to five seedlings per seed found here is higher than previously reported for other species of the group (Borges 1991), but comparable with Dipterocarpaceae (up to 18 seedlings per seed; Kaur *et al.* 1978) and species as *Ophiopogon japonicus* (L.f.) Ker-Gawl (up to 3 seedlings per seed; Fukai *et al.* 2000), *Eriotheca pubescens* (up to 7 seedlings per seed; Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) and *Vincetoxicum rossicum* (up to 3 seedlings per seed; Ladd & Cappuccino 2005).

The high frequency of polyembryony in Melastomataceae reinforces the idea that the the family is an apomictic prone group, as showed by previous reproductive studies (ex.: Renner 1989; Goldenberg & Sheperd 1998; Goldenberg & Varassin 2001). The occurrence of polyembryony originated by sexual process is rare in nature (Naumova 1992) and in some Melastomataceae the apomixis is non-pseudogamic, with autonomous fruit formation from emasculated flowers (Goldenberg & Sheperd 1998), which facilitates the correlation between apomixis and polyembryony presented here. The cases of polyembryony observed here elevated to nine the number of genera with this character in the Melastomataceae and clearly support the phylogenetic trend which associates apomixis with the tribe Miconieae (Goldenberg & Sheperd 1998), since apomixis and polyembryony commonly appear together (Carman 1997).

But discrepant results were found in *Miconia elegans*, that showed polyembryony in this study while a previous work had showed monoembryony and self-incompatibility (Borges 1991). But this species was misidentified, with correct name of *Miconia chamissois* (Renato Goldenberg, Universidade Federal do Paraná, personal communication). Discrepancies were also found in *Trembleya parviflora* (D. Don) Cogn., which had showed autonomous apomixis (Sousa-Silva 2000), but the population studied here presented only

monoembryonic seeds. Probably these species can show populations with different breeding system or embryonic patterns (monoembryonic or polyembryonic populations). Pollination treatments in *Trembleya parviflora* plants in the Serra da Canastra did not confirm apomixis (Ana Paula Milla dos Santos, unpublished results) and a populations of *Miconia elegans* in the Park of Sabiá found low pollen viability (Daniela Guimarães Simão *et al.* unpublished results), an indirect signal of apomixis (Goldenberg & Varassin 2001). These results reinforce the presence of different breeding systems for both species.

Different populations of Melastomataceae showing variations in breeding systems are common, as in *Rhexia mariana* L. which presents both apomixis (Etheridge & Herr 1968) and self-incompatibility (Kral & Bostick 1969), in *Rhexia virginica* L. with self-compatibility (Larson & Barret 1999) and self-incompatibility (Kral & Bostick 1969), in *Miconia alata* (Aubl.) DC. with apomixis (Renner 1984) and self-compatibility (Hokche & Ramírez 2008), in *Miconia ciliata* DC. with apomixis (Hokche & Ramírez 2008) and self-incompatibility (Melo & Machado 1998), in *Miconia laevigata* (L.) D. Don with apomixis (Dent-Acosta & Breckon 1991) and self-incompatibility (Sobrevila & Arroyo 1982), in *Miconia langsdorffii* Cogn. with apomixis (Saraiva 1994) and self-incompatibility (Goldenberg & Shepherd 1998). The occurrence of apomictic species with sexual populations is found for many gametophytic apomicts (Asker & Jerling 1992) and recently for sporophytic species as *Eriotheca pubescens* (Mart. and Zucc.) Schott et Endl. (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) and *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos (Gibbs & Bianchi 1993, Costa *et al.* 2004).

The association between polyembryony with species broadly distributed was coherent, since apomictic populations are more frequent in species with ample distribution than in species showing self-incompatibility or self-compatibility (Santos 2008) and most part of the polyembryonic species sampled here were apomictic. Higher frequency of polyembryony in zoochoric species dispersed in wet season is probably related to phylogeny, since the tribe Miconieae have zoochoric fruits (Santos 2008), are more commonly dispersed during the wet

season, when faunal activity appears to be higher in the Cerrado region (Oliveira 2008, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006). In order to test these associations, probably will be necessary to include more tribes of the Melastomataceae and contrast these results with the obtained for other families. The polyembryony had been also described in families with anemochoric fruits, dispersed during the dry season, as Bignoniaceae (Costa *et al.* 2004) and Malvaceae (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), so that polyembryony may be not triggered by ecological factors.

The polyembryony/apomixis may be associated with polyploidy in tribe Miconieae. Solt & Wurdack (1980) found polyploidy in populations of polyembryonics and apomictics species of *Miconia albicans* (Sw.) Triana ($2n=48$), *Miconia ibaguensis* ($2n=62$); *Miconia rubiginosa* ($2n=50$), while other monoembryonic/sexual species were diploid as *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cogn. presented $2n=17$. Other apomicts species of *Miconia* also had polyploid populations as *Miconia dodecandra* (Desr.) Cogn. in Mart., $2n=68$ (Sobrevila & Arroyo 1982); *Miconia laevigata*, $2n=24$ (Sobrevila & Arroyo 1982); *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC., $2n=34$ (Renner 1984); *Miconia tomentosa* (Rich.) DC., $2n=34$ (Renner 1984), but without reference of polyembryony. These contrast with the sexual species such as *Miconia araguensis* Wurdack. SC. (Sobrevila & Arroyo 1982), *Miconia ciliata* (Melo & Machado 1998), *Miconia macrodon* (Naudin) Wurdack (Ziegler 1925), *Miconia tuberculata* (Naudin) Triana (Arroyo & Cabrera 1977), which presented diploid populations. The relation of polyploidy and apomixis is common for species with gametophytic apomixis (Asker & Jerling 1977; Carman 1997, Hörandl 2010) and recently had been found for sporophytic apomixis (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005; Costa *et al.* 2004), contradicting previous assumptions from different authors (Hörandl 2010). Melastomataceae appears to be another group to support this relationship. Although apomixis is more related to self-incompatible groups (Hörandl 2010), this is not true for *Miconia* and the Melastomataceae as a whole, where self-compatibility is predominant in sexual species (Goldenberg & Shepherd 1994,

Santos 2008). Generic generalizations are difficult in Melastomataceae, as many genera as *Miconia* appear to be paraphyletic (Goldenberg *et al.* 2008)

Embryological studies in apomictics were unclear, but Borges (1991) in *Leandra australis* (Cham.) Cogn. found that embryos could be originated by unreduced embryo-sacs, in a possibly diplosporic apomixis process, concomitant with adventitious embryos originated elsewhere in the ovule (Borges 1991). Her results for *Miconia discolor* showed that adventitious embryos could occur in the vicinity of the megaspore mother cell, in a species which was possibly aposporous, with the formation of up to three embryos per ovule. Adventitious embryos formed from nucellus or suspensor cells have been reported from other Melastomataceae as *Osbeckia hispidisissima* Wight, *Sonerila wallichii* Benn., and *Melastoma malabathricum* L. (Subramanyam 1942; 1944; 1948). Probably groups with low PPS were diplosporics as *Leandra* (PPS 0-1.29%) and genus with high PPS were aposporic or have adventitious embryony as *Miconia* and *Clidemia* (PPS 0.71-28.13%), although embryological data for *Clidemia* is missing. This relation of high PPS and sporophytic apomixis were found among Cerrado species (Clesnan Mendes-Rodrigues, unpublished results)

The origin of polyembryony and apomixis in Melastomataceae are unclear, but high correlation between polyembryony and apomixis found here tend to show that polyembryony can be originated from apospory or adventitious embryony in Melastomataceae. These results can be reinforced for the few embryological results and high correlation found between adventitious embryony and polyembryony (Carman 1997; Naumova 1992) and the difficulty of polyembryony to originate either from diplosporic or sexual embryo sac.

There are many questions remaining about the occurrence of apomixis/polyembryony in seeds of Melastomataceae. We need to understand how in such small seed, many with dormancy, is possible the coexistence of more than one embryo and if this character could differentiate the seed and seedling biology of one of the most important families for Neotropical biomes as the Cerrado. Perhaps, these asexual reproduction alternative could

explain the success of the family with ca. 4500 species.; and reinforce their presence in a biome that is suffering increasing pressures of agriculture and human development.

We found that species of Melastomataceae presented in Cerrado biome showed high frequency of species with polyembryony associated with occurrence of apomixis. The polyembryony was concentrated in Miconieae, in species with ample distribution and associated with polyploidy. The presence of extra embryos in one seed could be used as one indication of asexual reproduction in this group until in species with low percentage of polyembryonic seeds in populations.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank to Thamy Santos Ribeiro and Ana Paula Milla dos Santos for support in seed germination experiments; Rosana Romero for species identification and Marli Aparecida Ranal for availability of laboratory for seed germination experiments. The authors received financial support from Brazil Council of Research (CNPq) and Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

REFERENCES

- Arroyo, M.T.K., Cabrera, E. (1977) Preliminary self-incompatibility test for some tropical cloud forest species in Venezuela. *Incompatibility Newsletter*, **8**, 72-76.
- Asker, S.E., Jerling, L. (1992) *Apomixis in plants*. Boca Raton: CRC Press, pp.298.
- Ayres, M., Ayres Jr., M., Ayres, D.L., Santos, A.deA.S.de. (2007) *BioEstat: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas*. Bélem: Ong Mamiraua, pp.324.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M., Chester, E.W. (1999) Seed dormancy and germination in *Rhexia mariana* var. *interior* (Melastomataceae) and eco-evolutionary implications. *Canadian Journal of Botany*, **77**, 488-493.
- Borges, H.B.N. (1991) Biologia reprodutiva de quatro espécies de Melastomataceae. Master

Degree Dissertation, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Carman, J.G. (1997) Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society*, **61**, 51-94.
- Clausing, G., Renner, S.S. (2001) Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: Implications for character evolution. *American Journal of Botany*, **88**, 486-498.
- Costa, M.E., Sampaio, D.S., Paoli, A.A.S., Leite, S.C.A.L. (2004) Polyembryony and aspects of embryogenesis in *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, **27**, 395-406.
- Czapik, R. (1996) Problems of apomitic reproduction in the families Compositae and Rosaceae. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, **31**, 381-387.
- Dent-Acosta, S.R., Breckon, G.J. (1991) Reproductive biology in six species of Melastomataceae in western Puerto Rico. In *First International Melastomataceae Symposium*, Smithsonian Institution, Washington D.C.
- DeWalt, S.J., Denslow, J.S., Hamrick, J.L. (2004) Biomass allocation, growth, and photosynthesis of genotypes from native and introduced ranges of the tropical shrub *Clidemia hirta*. *Oecologia*, **138**, 521-531.
- Ehtheridge, A.L., Herr Jr., J.M. (1968) The development of the ovule and megagametophyte in *Rhexia mariana*. *Canadian Journal of Botany*, **46**, 133-139.
- Ellison, A.M., Denslow, J.S., Loiselle, B.A., Brenés, D.M. (1993) Seed and seedling ecology of Neotropical Melastomataceae. *Ecology*, **74**, 1733-1749.
- Fracasso, C.M., Sazima, M. (2004) Pollination of *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): reproductive success versus bee diversity, behavior and frequency of visits. *Revista Brasileira de Botânica*, **27**, 797-804.
- Franco, A.M. (2007) Biologia reprodutiva de três espécies de Melastomataceae (*Tibouchina*

- cerastifolia* Cogn., *T. clinopodifolia* Cogn. e *T. gracilis* Cogn.) nos mananciais da Serra, Piraquara, Paraná. Master Degree Dissertation, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Fukai, S., Shimomura, T., Kondo, T. (2000) Morphological observation of polyembryony in *Ophiopogon japonicus* (Liliaceae). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, **69**, 614-616.
- Gibbs, P.E., Bianchi, M. (1993) Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility. *Botanica Acta*, **106**, 64-71.
- Goldenberg, R., Penneys, D.S., Almeda, F., Judd, W.S., Michelangeli, F.A. (2008) Phylogeny of *Miconia* (Melastomataceae): Patterns of stamen diversification in a megadiverse Neotropical genus. *Internation Journal of Plant Sciences*, **169**, 963-979.
- Goldenberg, R., Shepherd, G.J. (1998) Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. *Plant Systematics and Evolution*, **211**, 13-29.
- Goldenberg, R., Varassin, I.G. (2001) Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, **24**, 283-288.
- Gottsberger, G., Silberbauer-Gottsberger, I. (2006) *Life in the cerrado. A South American tropical seasonal ecosystem. Vol. II - Pollination and seed dispersal*. Ulm: Reta Verlag.
- Guimarães, P.J.F., Ranga, N.T. (1997) Reproduction system of *Rhynchanthera dichotoma* (Lam.) DC. *Acta Botanica Brasilica*, **11**, 41-44.
- Hokche, O.D., Ramírez, N. (2008) Sistemas reproductivos en especies de Melastomataceae en la gran sabana (Estado Bolívar, Venezuela). *Acta Botánica Venezuelica*, **31**, 387-408.
- Hörandl, E. (2010) The evolution of self-fertility in apomictic plants. *Sexual Plant*

Reproduction, **23**, 73-86.

- Kaur, A., Ha, C.O., Jong, K., Sands, V.E., Chan, H.T., Soepadmo, E., Ashton, P.S. (1978) Apomixis may be widespread among trees of climax rain forest. *Nature*, **271**, 440-442.
- Koltunow, A.M. (1993) Apomixis: embryo sac and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell*, **5**, 1425-1437.
- Koltunow, A.M., Johnson, S.D., Bicknell, R.A. (1998) Sexual and apomictic development in *Hieracium*. *Sexual Plant Reproduction*, **11**, 213-230.
- Kral, R., Bostick, P.E. (1969) The genus *Rhexia* (Melastomataceae). *Sida*, **3**, 387-440.
- Ladd, D., Cappuccino, N. (2005) A field study of seed dispersal and seedling performance in the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum*. *Canadian Journal of Botany*, **83**, 1181-1188.
- Larson, B.M.H., Barrett, S.C.H. (1999) The pollination ecology do buzz-pollinated *Rhexia virginica* (Melastomataceae). *American Journal of Botany*, **86**, 502-511.
- Medeiros, A.C., Loope, L.L. (1997) Status, ecology, and management of the invasive plant, *Miconia calvescens* DC (Melastomataceae) in the Hawaiian Islands. *Bishop Museum Occasional Papers*, **48**, 23-36.
- Melo, G.F., Machado, I.C., Luceño, M. (1999) Reprodución de tres especies de *Clidemia* (Melastomataceae) en Brasil. *Revista de Biología Tropical*, **47**, 359-363.
- Melo, G.F.A., Machado, I.C.S. (1998) Auto-incompatibilidade em *Miconia ciliata* (L.C. Rich.) DC. (Miconieae-Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica*, **12**, 113-120.
- Melo, G.F.de, Machado, I.C. (1996) Biologia da reprodução de *Henriettea succosa* DC. (Melastomataceae). *Revista Brasileira de Biologia*, **56**, 383-389.
- Mendes-da-Glória, F.J., Mourão Filho, F.d.A.A., Appezzatoo-da-Glória, B. (2001) Morphology of 'Valencia' sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) nucellar embryos. *Acta Botanica Brasilica*, **15**, 17-25.
- Mendes-Rodrigues, C., Araújo, F.P.de, Barbosa-Souza, C., Barbosa-Souza, V., Ranal, M.A.,

- Santana, D.G.de, Oliveira, P.E. (2010) Multiple dormancy and maternal effect on *Miconia ferruginata* DC. (Melastomataceae) seed germination, Serra de Caldas Novas, Goiás, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, **33**, 93-105.
- Mendes-Rodrigues, C., Carmo-Oliveira, R., Talavera, S., Arista, M., Ortiz, P.L., Oliveira, P.E. (2005) Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). *Plant Biology*, **7**, 533-540.
- Mendes-Rodrigues, C.M., Ranal, M., Oliveira, P.E. (2008) Could seed dormancy and polyembryony explain the success of *Clidemia hirta* (L.) D. Don. (Melastomataceae)? . In *IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais*, Brasília: Embrapa Cerrados. <http://www.cpac.embrapa.br/download/428/t>
- Moraes, S.C.de, Vasconcelos, H.L. (2009) Long-term persistence of a Neotropical ant-plant population in the absence of obligate plant-ants. *Ecology*, **90**, 2375-2383.
- Moreira, S., Gurgel, J.T.A., Arruda, L.F.de (1947) Poliembrionia em *Citrus*. *Bragantia*, **7**, 67-106.
- Naumova, T.N. (1992) *Apomixis in Angiosperms: Nucellar and Integumentary Embryony*. Boca Raton: CRC Press, pp.144.
- Oliveira, P.E.A.M.d. (2008) Fenologia e biologia reprodutiva de espécies de Cerrado. In *Cerrado: ecologia e flora*. (S.M. Sano, S.P.de Almeida, J.F. Ribeiro, eds), Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, pp 273-290.
- Ramirez, N., Brito, Y. (1990) Reproductive biology of a tropical palm swamp community in the Venezuelan Llanos. *American Journal of Botany*, **77**, 1260-1271.
- Renner, S.S. (1984) Phänologie, blütenbiologie und rekombinationssysteme einiger zentralamazonischer Melastomataceen. Doctoral Dissertarion, University of Hamburg, Hamburg.
- Renner, S.S. (1987) *Sandemania hoehnei* (Melastomataceae: Tibouchineae): taxonomy, distribution, and biology. *Brittonia*, **39**, 441-446.

- Renner, S.S. (1989) A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **76**, 496-518.
- Ribeiro Júnior, J.I. (2001) *Análise estatísticas no SAEG.*: Viçosa - UFV, pp.301.
- Romero, R., Martins, A.B. (2002) Melastomataceae from Serra da Canastra National Park, Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, **25**, 19-24.
- Romero, R., Nakajima, J.N. (1999) Endemic species from Serra da Canastra National Park, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Botânica*, **22**, 259-265.
- Rosa, R., Lima, S.C., Assunção, W.L. (1991) Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia, MG. *Sociedade e Natureza*, **3**, 91-108.
- Salomão, A.N., Allem, A.C. (2001) Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. *Acta Botanica Brasilica*, **15**, 369-378.
- Santos, A.P.M.de (2008) Biologia reprodutiva de Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais. Master Degree Dissertation, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- Santos, M.L.de (2003) Florística e biologia reprodutiva de espécies de Melastomataceae no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas e Parque Estadual dos Pireneus, Goiás. Doctoral Thesis, Universidade de Brasília, Brasília.
- Saraiva, L.C., Cesar, O., Monteiro, R. (1996) Breeding systems of shrubs and trees of a Brazilian Savanna. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, **39**, 751-763.
- Savidan, Y.H. (1985) Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia. In *I Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas. Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas*. (M.L.R. Aguiar-Perecin, P.S. Martins, G. Brandel, eds), Piracicaba: Sociedade Brasileira de Genética, pp 37-50.
- Schmidt, J.M., Antlfinger, A.E. (1992) The level of agamospermy in a Nebraska population of *Spiranthes cernua* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **79**, 501-507.
- Sobrevila, C., Arroyo, M.T.K. (1982) Breeding systems in a montane cloud forest in

- Venezuela. *Plant Systematics and Evolution*, **140**, 19-37.
- Solt, M.L., Wurdack, J.J. (1980) Chromosome numbers in Melastomataceae. *Phytologia*, **47**, 199-220.
- Souza-Silva, S.C.S. (2000) Biologia reprodutiva e polinização em Melastomataceae no Parque do Sabiá, Uberlândia, MG., Master Degree Dissertarion, Universidade de Brasília, Brasília.
- Specht, E.E., Meister, A., Keller, E.R.J., Korzun, L., Börner, A. (2001) Polyembryony in species of the genus *Allium*. *Euphytica*, **121**, 37-44.
- Subramanyam, K. (1942) Gametogenesis and embryogeny in a few members of the Melastomataceae. *Journal of Indian Botanical Society*, 69-85.
- Subramanyam, K. (1944) A contribution to the life-history of *Sonerila wallachii* Benn. *Journal of Indian Botanical Society*, **19**, 115-120.
- Subramanyam, K. (1948) An embryological study of *Melastoma malabathricum* L. *Journal of Indian Botanical Society*, **27**, 11-19.
- Werpachowski, J.S., Varassin, I.G., Goldenberg, R. (2004) The occurrence of apomixis and parthenocarpy in some subtropical Asteraceae. *Revista Brasileira de Botânica*, **27**, 607-613.
- Ziegler, A. (1925) Beitrage zur kenntnis des androeceums und der samenentwicklung einiger Melastomataceen. *Botanical Archives*, **9**, 398-467.

Capítulo 4

Mosaicos reprodutivos em duas espécies de *Eriotheca*

(Bombacoideae, Malvaceae): reprodução sexual versus apomixia

Resumo: A ocorrência de mosaicos reprodutivos tem sido caracterizada em vários grupos vegetais. Muitas dessas variações, no sistema reprodutivo, são associadas a variações na ploidia. Espécies sexuadas tendem a apresentar diploidia, enquanto as apomíticas são comumente poliplóides, com fortes diferenças nas características morfológicas, químicas e ecológicas entre os grupos. O objetivo do trabalho foi verificar a ocorrência de variações no sistema reprodutivo em populações de espécies de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* (Bombacoideae, Malvaceae), caracterizando os mosaicos reprodutivos quanto ao sistema reprodutivo, padrão de distribuição geográfica, aspectos morfológicos e citogenéticos. Tanto *Eriotheca pubescens* (EP) quanto *Eriotheca gracilipes* (EG) mostraram populações com dois padrões de embrionia, um com indivíduos estritamente monoembriônicos (PM) e outro com poliembriônicos (PP). O padrão de distribuição dos indivíduos poliembriônicos foi contrastante entre as duas espécies com os de EP na periferia e os de EG no centro. Os frutos tenderam a serem maiores em EP e maiores para os indivíduos poliembriônicos; com maior similaridade entre EG-PP e EG-PM, seguida de EP-PM e de EP-PP. A maior capacidade de dispersão de EP-PP pode estar relacionada ao maior número de sementes por fruto e pela possibilidade de ocorrência de genótipos com maior adaptabilidade, evidenciada pelos menores valores de coeficiente de variação. Os testes de sistema reprodutivo nos indivíduos tetraplóides de EP-PM mostraram que os mesmos são sexuados e apresentam auto-incompatibilidade, além de suas progênes apresentarem maior variabilidade genética que as de EP-PP. Embora muitas das generalizações para espécies com apomixia gametofítica

tenham sido encontradas em Bombacoideae, a apomixia esporofítica no grupo mostrou várias características distintas dos padrões gerais. Uma delas foi à ocorrência de poliplóides auto-incompatíveis e sexuados em EP-PM, embora todos os indivíduos poliembriônicos em *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens* tenham sido hexaplóides. Embora com presença de variação, foi observado que muitas das características anteriormente relacionadas a espécies com apomixia gametofítica também são associadas a espécies com apomixia esporofítica.

Palavras chave: poliembrionia, monoembrionia, apomixia, sistema reprodutivo, citogenética, biometria de frutos, RAPD, partenogênese geográfica, Cerrado, Bombacaceae.

Introdução

Mosaicos reprodutivos são comuns em diversos grupos vegetais, sendo as variações mais comuns a ocorrência de espécies autocompatíveis e auto-incompatíveis ou a presença de espécies sexuadas e assexuadas num mesmo grupo (Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Hörandl 2010). Muitas destas variações no padrão de reprodução têm sido associadas a diferenças citogenéticas. Geralmente citótipos diplóides têm sido relacionados a espécies com reprodução sexuada e autoesterilidade, enquanto citótipos poliplóides são relacionados com a reprodução assexuada via apomixia gametofítica e autofertilidade (Asker & Jerling 1992, Carman 1997, Hörandl 2010,). Por sua vez, a ocorrência de citótipos também é relacionada com diferenças na expressão de fatores como composição química (Berkov 2001), características reprodutivas, vegetativas (Jaskani *et al.* 2005; Scott *et al.* 1998), padrão de germinação das sementes (Scioli 1981), distribuição geográfica (Asker & Jerling 1992) e respostas a herbívoros (Nuismer & Thompson 2009).

Muitos dos estudos de espécies com mosaicos reprodutivos têm sido essencialmente focados em espécies que apresentam populações sexuadas e apomíticas (Asker & Jerling 1992). A apomixia é caracterizada pela formação autônoma de embriões sem a ocorrência de fecundação (Koltunow 1993). A maioria dos estudos com populações apomíticas têm envolvido espécies com apomixia gametofítica em ambientes temperados (Hörandl 2010), enquanto estudos para espécies com apomixia esporofítica e para regiões tropicais são ainda raros. A poliembrião, ocorrência de mais de um embrião por semente, tem sido fortemente correlacionada à apomixia (Carman 1997, Naumova 1992), e existem registros de espécies com indivíduos e/ou populações monoembriônicas ou poliembriônicas para *Citrus limon* (L.) Burm. (Wilms *et al.* 1983), *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Domingues *et al.* 1999) e *Eriotheca pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott. & Endl. (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005).

Eriotheca (Malvaceae-Bombacoideae) é um gênero de árvores tropicais, representado por algumas espécies na região dos Cerrados brasileiros. Embora a maioria das espécies nesta subfamília seja autoestéril e apresente auto-incompatibilidade de ação tardia (Gibbs & Bianchi 1993, Gribel *et al.* 1999, Gribel & Gibbs 2002), há registros de espécies com autofertilidade, apomixia e poliembrião (Robyns 1959, Baker 1960, Duncan 1970, Oliveira *et al.* 1992; Mendes-Rodrigues *et al.* 2005). Neste cenário, *Eriotheca* mostra-se um grupo diversificado, pela presença de auto-incompatibilidade e diploidia em *Eriotheca gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns e autocompatibilidade, poliploidia e apomixia em *Eriotheca pubescens*, espécies simpátricas e comumente encontradas no Bioma Cerrado (Oliveira *et al.* 1992).

Esse grupo permite testar a associação de variações na ploidia com a ocorrência de diferentes sistemas reprodutivos. E ainda é possível testar se essas diferenças citológicas também estão associadas a diferenças morfológicas, ao padrão de distribuição das espécies como é observado para algumas espécies com apomixia gametofítica (Asker & Jerling 1992),

uma vez que alguns autores não acreditam na associação de poliploidia com apomixia esporofítica (Ramsey & Schemske 1998, Horändl 2010).

O objetivo do trabalho foi verificar a ocorrência de variações no sistema reprodutivo em populações de espécies de *Eriotheca*, com especial referência a *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes*, caracterizando os mosaicos reprodutivos quanto ao sistema reprodutivo, padrão de distribuição geográfica, aspectos morfológicos e citogenéticos. Também objetivou-se testar se ocorrem poliplóides em outras espécies de Bombacoideae e se essa ocorrência está associada a poliembrionia.

Material e Métodos

Espécies e populações amostradas - *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* são árvores com até 12 m de altura, comuns em áreas de cerrado no Brasil Central, ocorrendo do estado do Maranhão até o norte de São Paulo, e da Bahia até o Mato Grosso. Elas florescem de maio até setembro e produzem frutos que amadurecem de setembro a outubro. Os frutos são cápsulas que expõem as sementes em tufo de plumas dispersas pelo vento (Oliveira *et al.* 1992). As populações das duas espécies foram amostradas no estado de Minas Gerais, município de Uberlândia, e ao longo das BR050 ligando Uberlândia e Brasília, BR452 - BR262 que liga Uberlândia a Belo Horizonte e também foram incluídos indivíduos amostrados nos municípios de Varjão de Minas, estado de Minas Gerais; de Caldas Novas e de Cristalina, estado de Goiás.

Outras espécies de Bombacoideae ocorrentes na região foram incluídas somente como grupos externos para a análise de agrupamento da biometria de frutos e da citogenética. *Eriotheca candolleana* (K. Schum.) A. Robyns é uma espécie predominantemente florestal que apresenta o mesmo padrão fenológico das espécies anteriores de *Eriotheca*. *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns foi coletada no campus da Universidade Federal de Uberlândia,

onde é cultivada como arborização; *Pseudobombax longiflorum* (Mart. & Zucc.) A. Robyns e *Pseudobombax tomentosum* (Mart. & Zucc.) A. Robyns. foram coletadas nas mesmas áreas amostradas para *Eriotheca*.

Os materiais testemunha das espécies foram incluídos no *Herbarium Uberlandense*: *Eriotheca pubescens*, indivíduos monoembriônicos (HUFU50731) e indivíduos poliembriônicos (HUFU25854); *Eriotheca gracilipes*, indivíduos monoembriônicos (HUFU25856) e indivíduos poliembriônicos (HUFU50733); *Eriotheca candolleana* (HUFU50730); *Bombacopsis glabra* (HUFU52182), *Pseudobombax longiflorum* (C.M.Rodrigues 75).

Ocorrência de poliembrionia – Como os indivíduos com diferentes padrões de embrionia (indivíduos monoembriônicos e poliembriônicos) são indistinguíveis vegetativamente, as sementes foram coletadas e amostradas separadamente por indivíduo. Para a avaliação da poliembrionia as sementes foram dissecadas e o número de embriões por semente foi contado. Para *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes*, as populações foram georeferenciadas utilizando-se GPS para a determinação do padrão de distribuição geográfica. Foi anotada ainda a altitude aproximada do local de coleta de cada um dos indivíduos.

Para a avaliação da variação anual e intra-específica na frequência de poliembrionia em indivíduos poliembriônicos de *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens*, as sementes foram coletadas separadamente por indivíduo e para diversos anos. Para *Eriotheca pubescens*, padrão poliembriônico (EP-PP), as coletas foram realizadas em 33 indivíduos em 2003; quatro em 2005; três em 2006; dois em 2007 e cinco em 2008. Para *Eriotheca gracilipes*, padrão poliembriônico (EG-PP), foram coletados dois indivíduos em 2006, dois em 2007 e sete em 2008. Para os indivíduos monoembriônicos foram amostrados três em 2007 e 31 em 2009 para *Eriotheca gracilipes* (EG-PM), cinco em 2005, três em 2006, seis em 2007 e 2009 para *Eriotheca pubescens* (EP-PM). O baixo número de indivíduos amostrados em alguns dos

anos foi relacionado a fortes diferenças no padrão de frutificação e predação de frutos entre os anos. A altitude onde os indivíduos de EP-PP e EP-PM se encontravam foi registrada somente para alguns dos indivíduos durante os anos de 2003, 2005 e 2008 (n em 2003: EP-PM = 5 e EP-PP = 33; n em 2005: EP-PM = 10 e EP-PP = 5; n em 2008: EP-PM = 7 e EP-PP = 17). Para os indivíduos de EP-PP amostrados em 2003 a altitude foi correlacionada com o número médio de embriões por semente.

A amostragem do número de embriões por semente para os diferentes anos e indivíduos foi variada. Desta maneira, a frequência relativa das sementes coletadas por diferente classe embriônica (definida pelo número de embriões por semente) foi corrigida. Para isto, a contribuição de cada semente na amostra foi balanceado em função do número de sementes amostradas no ano e do número de anos amostrados a partir da equação $FRC_{sem} = 100 / na / nia_i / nsi_{iai}$ onde FRC_{sem} : Frequência relativa corrigida por semente, na = número de anos amostrados, nia_i = número de indivíduos amostrados no i^{th} ano, nsi_{iai} = número de sementes amostradas no i^{th} indivíduo no i^{th} ano. A FRC de cada classe embriônica foi obtida pelo somatório da contribuição de cada semente.

Biometria – Para a avaliação da similaridade morfológica dos frutos entre as espécies, foi realizada coleta de frutos entre 2003 e 2009. Para *Eriotheca gracilipes* foram amostrados sete indivíduos de EG-PP em 2008 e 31 de EG-PM em 2009. Para *Eriotheca pubescens* foram amostrados 33 indivíduos de EP-PP em 2003, cinco em 2003 e 31 em 2009 de EP-PM. Foram amostrados um indivíduo de *Pseudobombax tomentosum* em 2009, um em 2003 para *Pseudobombax longiflorum*, e sete em 2003 para *Bombacopsis glabra*. Não foi possível realizar a biometria de frutos de *Eriotheca candolleana*.

Para todas as espécies, os frutos foram medidos separadamente por indivíduo (de três a 61 frutos por indivíduo), com o auxílio de paquímetro digital (Stainless Worker®; 0,01 mm). Foram aferidos o comprimento do fruto, a maior largura do fruto, o comprimento do

pedúnculo, o número de sementes mal-formadas e o número total de sementes por fruto. Foi realizada análise de agrupamento utilizando-se o método de UPGMA, a partir de distancia euclidiana simples, com o uso do programa Fitopac 1.6.4 (Shepherd 2006), para a qual se utilizou os valores médios das medidas dos frutos, independente do indivíduo. Os valores médios das medidas foram comparados entre os padrões embriônicos de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes*, sendo que os dados das demais espécies não foram incluídos nessa análise, servindo somente como grupos externos na análise de agrupamento.

Embriologia - Foram coletados botões florais, flores e frutos em diferentes fases de desenvolvimento em indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca pubescens*, população de Cristalina em 04/08/2007, com objetivo de identificar a origem dos embriões nas sementes monoembriônicas. Os diferentes estágios foram fixados em FAA modificado (Lersten & Curtis 1988) ou em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato (pH 7,2 – 0,1 M) (McDowel & Trump 1976). Em seguida foram tratados como referido para cada técnica e estocados em álcool etílico 70% (Jensen 1962). O material foi incluído em Paraplast (Sass 1951) após desidratação em série butílica (Kraus & Arduin, 1997) e seccionado transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo. As secções de μm foram submetidas à dupla coloração com azul de astra e fucsina básica (Kraus & Arduin 1997). Os resultados foram registrados por meio de imagens obtidas em fotomicroscópio Zeiss Axioplan, utilizando-se câmera digital Sony DSC-W30 e o programa DPController.

Sistema de reprodução – O sistema reprodutivo de EP-PM foi estudado a partir de tratamentos de polinização controlada realizados na população de Cristalina, estado de Goiás, em Junho de 2009. Foram utilizados apenas indivíduos que produziram exclusivamente sementes monoembriônicas. Para o tratamento de autopolinização, as flores em pré-antese foram emasculadas e polinizadas com pólen de flores de primeiro dia de abertura obtidas do

mesmo indivíduo. Para o tratamento de polinização cruzada flores abertas de primeiro ou segundo dia foram polinizadas com pólen oriundo de outros indivíduos. Nos dois tratamentos as flores foram mantidas ensacadas até a avaliação da formação de frutos. Para o tratamento controle foram utilizadas flores de 1º dia que foram apenas marcadas e expostas a polinização natural. Todos os tratamentos foram marcados com auxílio de linha colorida e a formação de frutos foi avaliada 27 dias após a polinização (03/07/2009). Os resultados foram comparados aos dados de frutificação de EG-PM obtidos por Oliveira *et al.* (1992) e Rodrigues (2001) e de EP-PP obtidos por Oliveira *et al.* (1992) e Mendes-Rodrigues *et al.* (2005).

Citogenética – Para a determinação do número cromossômico das espécies foram coletadas sementes separadas por indivíduo, nas mesmas populações avaliadas para poliembrião, nos anos de 2007, 2008 e 2009. As sementes foram semeadas sobre vermiculita, umedecida com água destilada, sendo mantidas em caixas de germinação transparentes (gerbox) em câmara de germinação (Modelo MDG2000, Seedburo Company, ± 25 °C). Após a germinação, as radículas das plântulas foram coletadas (2-5 mm da ponta) e tratadas em paradiclorobenzeno por 4 h à temperatura de 16-18 °C ou com 8-hidroxiquinoleína por 4 h, entre 16-18 °C ou por 24 h a 4 °C. Em seguida as mesmas foram fixadas em solução Carnoy (etanol:ácido acético, 3:1, mL/mL) por 48 h e estocadas em etanol 70%, à 4 °C. Para visualização das metáfases mitóticas as raízes passaram por três lavagens seguidas, em água destilada, com duração de cinco minutos cada. Posteriormente, foram hidrolisadas em HCl 5N à temperatura ambiente, por 10-20 minutos, repetidas as três lavagens em água destilada e em seguida maceradas em ácido acético 45%. Para montagem e coloração das lâminas foi realizada a técnica de esmagamento e coloração com Giemsa a 2% (Guerra, 1983).

Variabilidade genética entre progênies - Para a avaliação da variabilidade genética entre as progênies de *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens* as sementes de quatro indivíduos

monoembriônicos de EP-PP, um de EGP-PM e quatro indivíduos poliembriônicos de EP-PP; todas coletadas no ano de 2003 foram cultivadas para obtenção de plântulas. As sementes foram semeadas em bandejas de isopor multicelulares com substrato comercial (Plantmax[®]) e cultivadas em estufa por aproximadamente seis meses. Foram coletadas cinco progênes para cada indivíduo de EP-PP e EP-PM e quatro para EG-PM. A parte aérea das plântulas foi coletada e armazenada em freezer a - 70 °C. O DNA genômico foi extraído seguindo protocolos de CTAB (Doyle & Doyle 1986), com modificações. A partir do DNA genômico foram utilizados primers arbitrários tipo RAPD (Operon Technologies: OPJ19, OPM05, OPN02, OPN03, OPN05, OPN10, OPP18) para amplificação e os fragmentos foram visualizados em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídeo, visualizados com luz ultravioleta e fotografados. O padrão de bandas foi comparado com o uso de análise de agrupamento, utilizando-se o método de UPGMA a partir de distância euclidiana simples, com o uso do programa Fitopac 1.6.4 (Shepherd 2006).

Análise Estatística – O *NMES* (número médio de embriões por semente) dos indivíduos poliembriônicos de *Eriotheca* foi testado com o uso de Nested ANOVA. Foram realizadas duas análises, uma para a comparação das espécies, onde os indivíduos foram aninhados dentro de anos e os anos aninhados dentro de cada espécie. Na segunda análise, realizada para a comparação dos anos isoladamente para cada espécie, os indivíduos foram aninhados dentro de cada ano. Os *NMES*, por ano ou por espécie, foram comparados par a par com o uso do teste de Tukey. Os dados de biometria dos frutos dos padrões de embrionia de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* também foram comparados com uso de Nested ANOVA, com os indivíduos aninhados dentro de cada padrão de embrionia, sendo que as médias foram comparadas com o uso do teste de Scott-Knott, para a formação de grupos independentes. O uso de Nested ANOVA também permitiu a decomposição da variância com o objetivo de definir a proporção da variação explicada para cada fator envolvido na análise. As análises do

Nested ANOVA foram realizadas no programa SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (Ribeiro Júnior, 2001). A correlação entre o *NMES* e a altitude foi testada com o teste *t* de Student e a comparação entre altitudes de ocorrência dos indivíduos foi testada com o uso de ANOVA para dois fatores (ano de amostragem e padrão de embrionia). Para todas as análises a significância adotada foi de 0,05.

Resultados

Padrões de embrionia - Foram encontrados indivíduos monoembriônicos para *Eriotheca candolleana*, *Eriotheca pubescens* (Figuras 1A, 1E), *Eriotheca gracilipes* (Figuras 1C, 1G), *Pseudobombax longiflorum* e *Pseudobombax tomentosum*; e indivíduos poliembriônicos para *Bombacopsis glabra*, *Eriotheca pubescens* (Figuras 1B, 1F), e *Eriotheca gracilipes* (Figuras 1D, 1H). Os mosaicos reprodutivos foram presentes somente para *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes*.

Caracterização da poliembrionia em *Eriotheca* - Os indivíduos de EG-PP mostraram tanto a formação de sementes monoembriônicas como poliembriônicas para todos os anos com forte variabilidade entre os indivíduos (Figura 2) e com predominância de sementes poliembriônicas ($PSP = 95,35\%$, Figura 3), com a formação de até 10 embriões por semente. Em EP-PP também se encontrou sementes monoembriônicas e poliembriônicas (Figura 3) para todos os anos, com variabilidade entre os indivíduos (Figura 2) e predominância das sementes poliembriônicas ($PSP = 87,35\%$, Figura 3), com a formação de até 15 embriões por semente. O número médio de embriões por semente (*NMES*) deferiu entre as duas espécies, com *Eriotheca pubescens* mostrando o maior *NMES*, sendo que a variação foi explicada principalmente pelo fator indivíduo (34,19%), em comparação com a variação entre anos de amostragem (0%). O *NMES* também variou entre os anos de amostragem para as duas

espécies, quando as espécies foram analisadas independentemente, sendo que os fatores não controlados foram mais importantes para explicar a variabilidade no *NMES*, embora o fator indivíduo para EP-PP tenha explicado 39,27% da variância (Tabela 1). Os padrões poliembriônicos das duas espécies de *Eriotheca* mostraram variabilidade entre indivíduos para o número médio de embriões, sendo que em EP-PP foi encontrada variação de 1,27 a 6,71 embriões por semente e em EG-PP foi encontrada variação de 2,55 a 3,90 embriões por semente (Figura 2).

O *NMES* para EP-PP em 2003 foi correlacionado a altitude dos indivíduos ($r = 0,4184$; $t = 2,56$; $P = 0,0153$). A altitude de localização dos indivíduos amostrados de *Eriotheca pubescens* variou para os dois padrões de embrionia ($F_{1;71} = 22,02$; $P < 0,0000$) com EP-PM = $1059,36 \pm 22,52$ e EP-PP = $941,51 \pm 13,03$, e não ocorreu interação entre o ano de amostragem e o padrão de embrionia ($F_{2;71} = 2,19$; $P = 1,0000$).

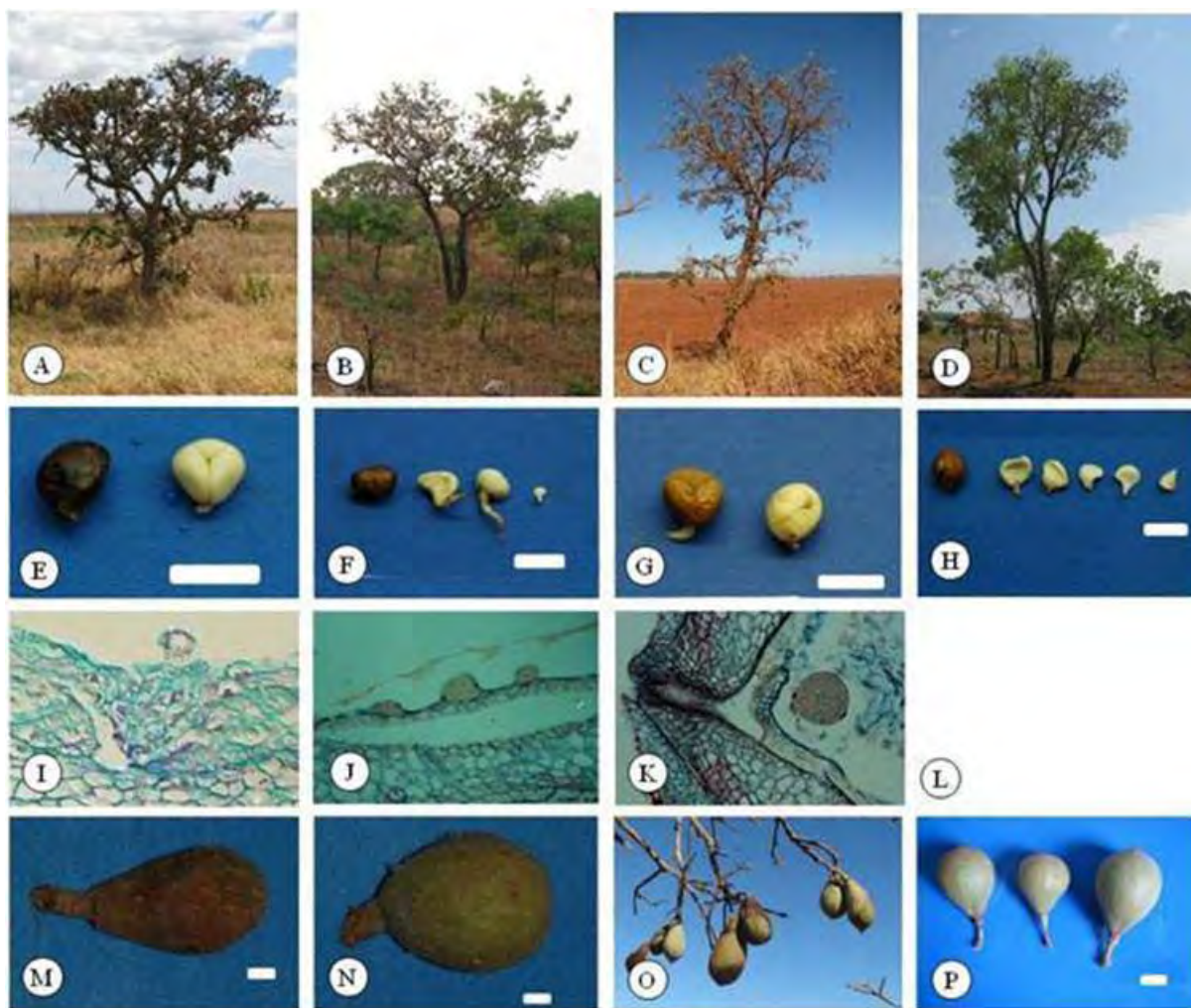


Figura 1. Caracterização de espécies de *Eriotheca* (Bombacoideae, Malvaceae). com diferentes padrões de poliembrião. **Legenda:** EG: *Eriotheca gracilipes*, EP: *Eriotheca pubescens* – PM: Padrão Mono, indivíduos com sementes exclusivamente monoembriônicas, PP: Padrão Poli, indivíduos com sementes poliembriônicas. Escalas 1 cm.

Fig. 1A-D: Indivíduos em fase de frutificação no campo. Fig. 1A: EP-PM, Fig. 1B: EP-PP, Fig. 1C: EG-PM, Fig. 1D: EG-PP; **Fig. 1E-H:** Sementes com embriões dissecados logo após a germinação das sementes. Fig. 1E: EP-PM, Fig. 1F: EP-PP, Fig. 1G: EG-PM, Fig. 1H: EG-PP; **Fig. 1I-L:** Embriogênese de embriões sexuados e assexuados. Fig. 1I: EP-PM, Fig. 1J: EP-PP, Fig. 1K: EG-PM, Fig. 1L: EG-PP, desconhecida; **Fig. 1M-P:** Frutos maduros. Fig. 1M: EP-PM, Fig. 1N: EP-PP, Fig. 1O: EG-PM, Fig. 1P: EG-PP.

Tabela 1. Avaliação do número de embriões por semente, em espécies poliembriônicas de *Eriotheca* (Bombacoideae, Malvaceae), em função da espécie e do ano de coleta. Médias seguidas pela mesma letra, em cada comparação, não são diferentes baseadas no teste de Tukey.

Legenda: *NMES*: Número médio de embriões por semente, *PSP*: Porcentagem de sementes poliembriônicas, *F*: estatística *F* de Snedecor para o teste de Nested ANOVA, **: $P < 0,0001$; σ^2_{sp} : variância para o efeito espécie, σ^2_{ano} (σ^2_{sp}): variância para o efeito ano aninhado em espécie, σ^2_{ind} (σ^2_{ano}): variância para o efeito indivíduo aninhado em ano e σ^2_{ano} : variância para o efeito ano.

Espécie	Ano	n° de indivíduos	n° de sementes	<i>NMES</i>	Erro Padrão	<i>PSP</i> (%)	Mínimo - Máximo
<i>E. gracilipes</i>	Todos	Todos	1418	3,63 b	0,04	95,35	1-10
<i>E. pubescens</i>	Todos	Todos	3083	3,86 a	0,04	87,35	1-15
<i>F</i> (espécie) 17,83 **: σ^2_{sp} : 0,00%							
<i>F</i> ano (espécie): 36,27 **: σ^2_{ano} (σ^2_{sp}): 0,00%							
<i>F</i> indivíduo (ano): 39,97 **: σ^2_{ind} (σ^2_{ano}): 34,19%							
<i>E. gracilipes</i>	Ano 2006	2	85	3,36 b	0,16	91,76	1-7
	Ano 2007	2	625	3,85 a	0,06	96,96	1-10
	Ano 2008	7	708	3,48 b	0,06	94,35	1-10
<i>F</i> (ano): 11,95 **: σ^2_{ano} : 1,41%							
<i>F</i> indivíduo (ano): 5,26 **: σ^2_{ind} (σ^2_{ano}): 3,46%							
<i>E. pubescens</i>	Ano 2003	33	1650	4,05 b	0,05	91,94	1-13
	Ano 2005	4	203	3,93 bc	0,11	94,58	1-9
	Ano 2006	3	354	3,57 c	0,09	88,42	1-8
	Ano 2007	2	182	4,90 a	0,21	83,52	1-15
	Ano 2008	5	694	3,26 d	0,09	74,78	1-15
<i>F</i> (ano): 45,76 **: σ^2_{ano} : 0,00%							
<i>F</i> indivíduo (ano): 39,92 **: σ^2_{ind} (σ^2_{ano}): 39,27%							

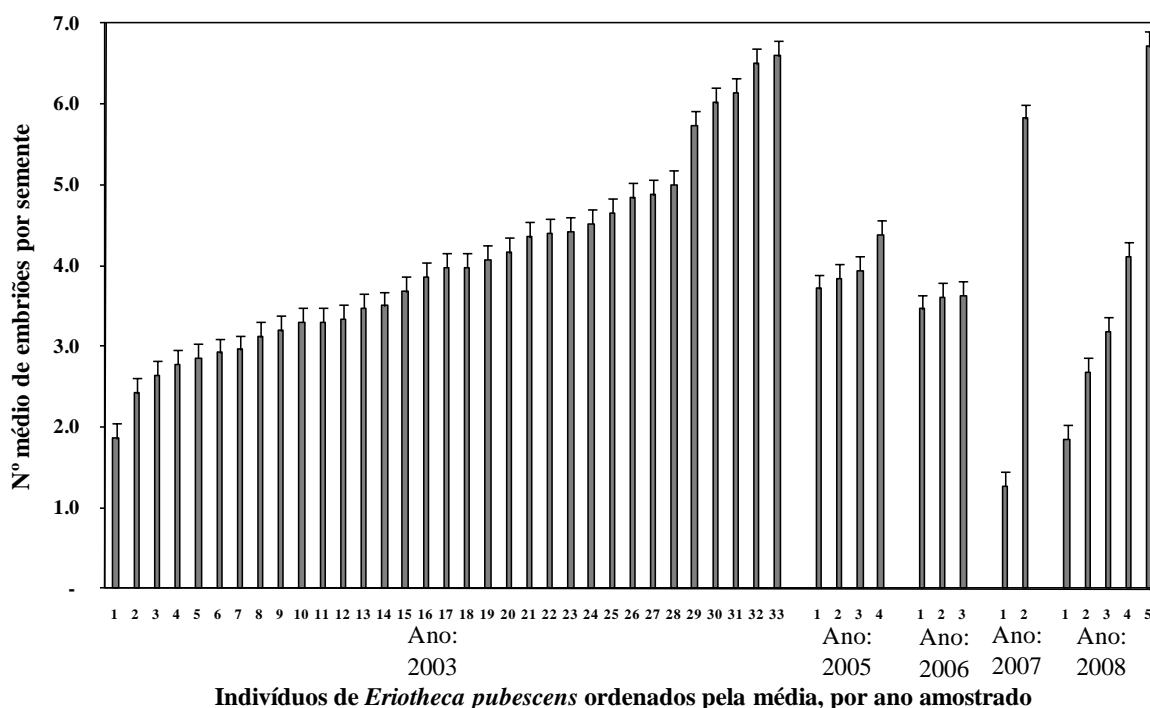
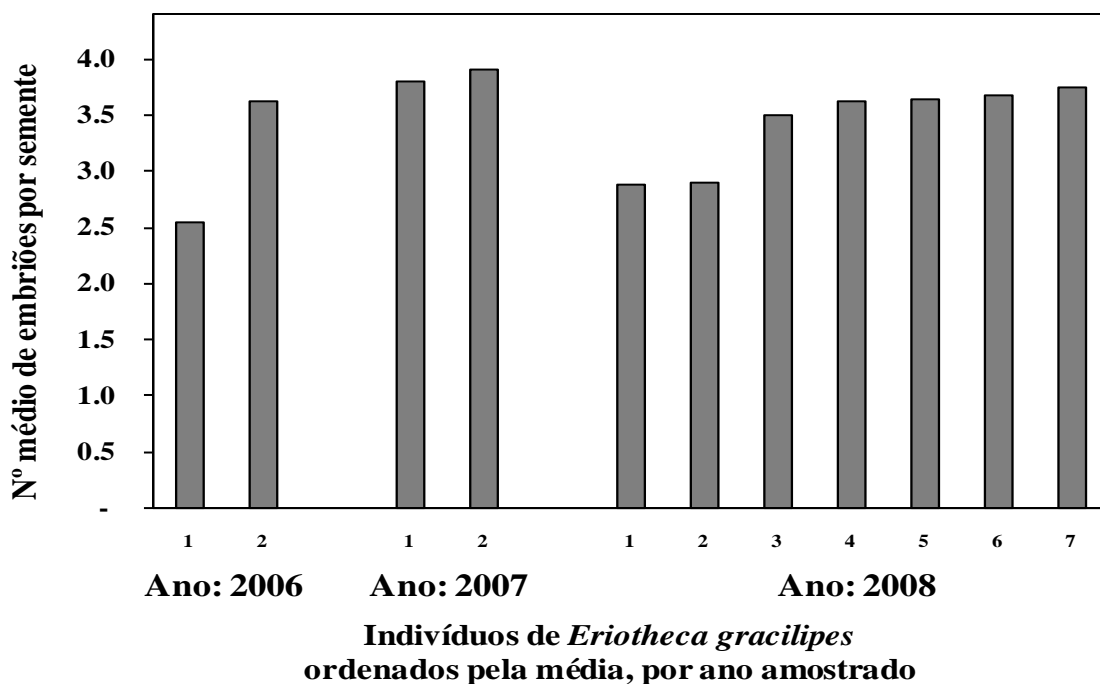


Figura 2. Padrão de variabilidade intra-específica no número médio de embriões por semente (T: erro padrão) de duas espécies poliembriônicas de *Eriotheca* (Bombacoideae, Malvaceae), para diferentes anos de amostragem. Legenda: Os números se referem ao indivíduo de coleta; em ordem crescente de número médio de embriões por semente, para cada um dos anos amostrados.

Tabela 2. Número de sementes avaliadas para análise de poliembriõnia em espécies de Bombacoideae (Malvaceae), com padrão monoembriônico, em função da espécie e do ano de coleta.

Legenda: *NMES*: Número médio de embriões por semente, *PSM*: Porcentagem de sementes monoembriônicas.

Espécie	Ano	nº de indivíduos	nº de sementes	<i>NMES</i>	<i>PSM</i> (%)
<i>Eriotheca candolleana</i>	2007	2	417	1,00	100,00
<i>Eriotheca gracilipes</i>	2007	3	34	1,00	100,00
	2009	31	285	1,00	100,00
	Todos	-	319	1,00	100,00
<i>Eriotheca pubescens</i>	2003	5	250	1,00	100,00
	2006	3	111	1,00	100,00
	2007	6	640	1,00	100,00
	2008	6	1408	1,00	100,00
	Todos	-	2409	1,00	100,00
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	2003	3	100	1,00	100,00
	2008	5	3097	1,00	100,00
	Todos	-	3197	1,00	100,00
<i>Pseudobombax longiflorum</i>	2003	3	100	1,00	100,00
	2008	9	1409	1,00	100,00
	Todos	-	1509	1,00	100,00

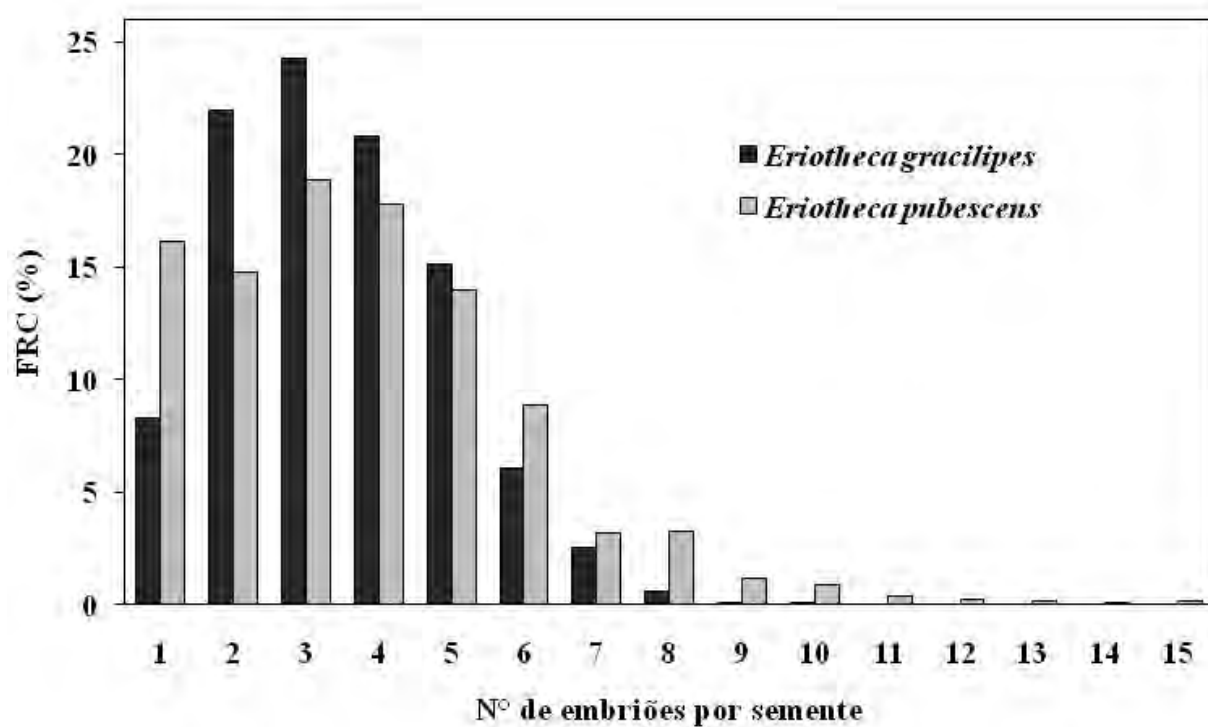


Figura 3. Frequência Relativa Corrigida (FRC em %) do número de sementes com diferentes números de embriões por semente em indivíduos poliembriônicos de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* (Bombacoideae, Malvaceae), independente do indivíduo e do ano de coleta.

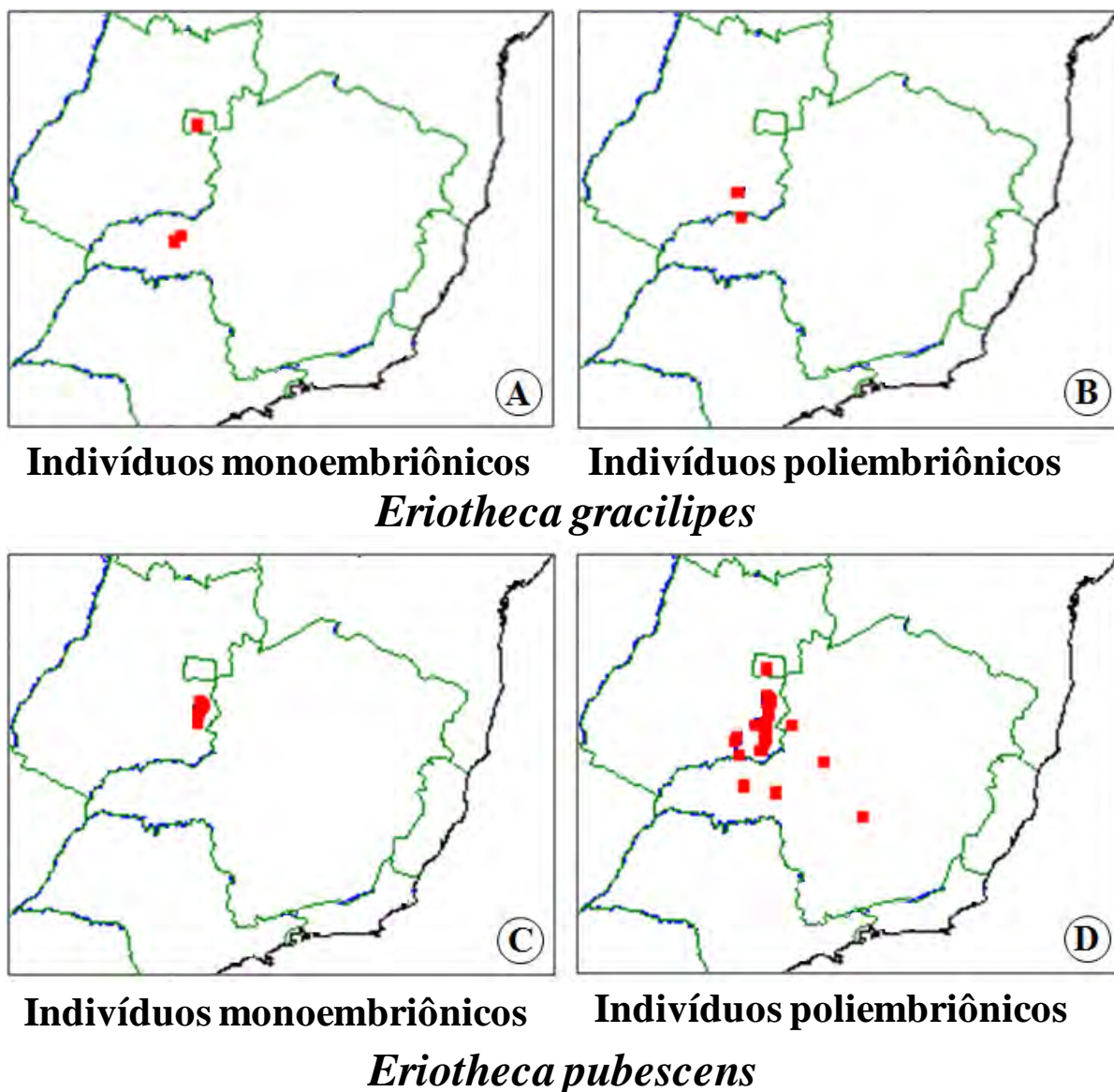


Figura 4. Padrão de distribuição geográfica de indivíduos monoembriônicos e poliembriônicos de duas espécies de *Eriotheca* (Bombacoideae, Malvaceae).

Legenda: **Fig. 4A:** Indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca gracilipes*, **Fig. 4B:** Indivíduos poliembriônicos de *Eriotheca gracilipes*, **Fig. 4C:** Indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca pubescens* e **Fig. 4D:** Indivíduos poliembriônicos de *Eriotheca pubescens*.

Biometria - Todos os frutos de *Eriotheca* são cápsulas oblongas (com comprimento maior que a largura), loculicidas, com cinco lóculos que, ao abrir, expõem suas sementes em tufo de plumas (Figura 1M-P). A principal diferença entre os frutos é que os de EP-PM e EP-PP são pilosos (Figura 1M-N) e os de EG-PM e EG-PP são glabrescentes, com tricomas ferrugíneos esparsos (Figura 1O-P). O comprimento, a largura e o número de sementes dos frutos foram maiores para EP-PP, enquanto o número de sementes mal-formadas por fruto foi maior para EP-PM (Tabela 3). As menores medidas dos frutos foram encontradas em *Eriotheca gracilipes* (EG-PM), que apresentaram os menores valores da largura do fruto e número de sementes mal-formadas. Os frutos de EG-PP apresentaram os menores valores do comprimento do fruto e o número de sementes por fruto não variou entre os dois padrões.

Os indivíduos de EP-PP mostraram menor variabilidade, medida pelo coeficiente de variação, para o comprimento, largura e número de sementes dos frutos, com os outros padrões sem diferenças quanto à variabilidade. O comprimento do pedúnculo não apresentou diferenças entre os padrões testados e a maior variabilidade para o número de sementes mal-formadas foi encontrada para EG-PP, sem diferenças entre as demais padrões (Tabela 1).

A análise de agrupamento mostrou que os dois padrões de embrionia de *Eriotheca gracilipes* foram muito similares quanto à morfologia do fruto, sendo mais distantes dos padrões EP-PM e EP-PP. Os grupos externos diferiram de *Eriotheca*, sendo que *Pseudobombax* formou um grupo mais externo e *Bombacopsis glabra* foi mais similar aos padrões de *Eriotheca* do que de *Pseudobombax* (Figura 5).

Tabela 3. Biometria de frutos de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* (Bombacoideae, Malvaceae) com diferentes padrões de embrionia (PM: indivíduos com sementes monoembriônicas e PP: indivíduos com sementes poliembriônicas). Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott.

Legenda: *F*: estatística *F* de Snedecor para o teste de Nested ANOVA, **: $P < 0,0001$; σ^2_{sp} : variância para o efeito espécie, σ^2_{ind} (σ^2_{sp}): variância para o efeito indivíduo aninhado em espécie, *CV*: Coeficiente de variação.

Característica (unidade)	Espécie	Padrão	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	<i>CV</i> _{médio} (%)
Comprimento do fruto (mm)	<i>E. gracilipes</i>	PM	52,40 c	0,55	24,26	92,87	13,22 a
		PP	42,71 d	0,60	27,49	63,48	12,61 a
	<i>E. pubescens</i>	PM	67,20 b	2,06	40,40	127,21	11,66 a
		PP	72,85 a	0,92	46,90	109,10	8,23 b
F (espécie) 647,80 **: σ^2_{sp} : 46,47% F indivíduo (espécie): 29,17 **: σ^2_{ind} (σ^2_{sp}): 38,33%							
Largura do fruto (mm)	<i>E. gracilipes</i>	PM	32,41 d	0,21	16,20	46,09	9,09 a
		PP	33,59 c	0,49	21,61	56,01	10,01 a
	<i>E. pubescens</i>	PM	39,35 b	0,52	27,40	53,60	8,79 a
		PP	49,56 a	0,33	37,40	61,60	5,83 b
F (espécie) 1316,68 **: σ^2_{sp} : 73,73% F indivíduo (espécie): 15,71 **: σ^2_{ind} (σ^2_{sp}): 14,94%							
Comprimento do pedúnculo (mm)	<i>E. gracilipes</i>	PM	18,30 c	0,21	9,86	42,98	16,76 a
		PP	21,31 a	0,35	13,27	36,14	12,28 a
	<i>E. pubescens</i>	PM	15,29 d	0,51	7,26	28,80	16,16 a
		PP	20,90 b	0,29	11,70	31,00	14,10 a
F (espécie) 119,52 **: σ^2_{sp} : 17,09% F indivíduo (espécie): 16,48 **: σ^2_{ind} (σ^2_{sp}): 48,17%							
Nº de sementes mal-formadas por fruto	<i>E. gracilipes</i>	PM	0,21 c	0,03	0,00	5,00	179,48 b
		PP	0,40 b	0,08	0,00	6,00	298,96 a
	<i>E. pubescens</i>	PM	0,92 a	0,17	0,00	10,00	165,34 b
		PP	0,41 b	0,07	0,00	5,00	113,53 b
F (espécie) 21,82 **: σ^2_{sp} : 5,75% F indivíduo (espécie): 4,59 **: σ^2_{ind} (σ^2_{sp}): 22,92%							
Número de sementes por fruto	<i>E. gracilipes</i>	PM	13,41 c	0,34	2,00	43,00	36,62 a
		PP	12,95 c	0,35	4,00	23,00	31,02 a
	<i>E. pubescens</i>	PM	15,73 b	0,64	4,00	37,00	34,87 a
		PP	18,87 a	0,46	6,00	41,00	24,90 b
F (espécie) 55,77 **: σ^2_{sp} : 12,31% F indivíduo (espécie): 7,99 **: σ^2_{ind} (σ^2_{sp}): 33,78%							

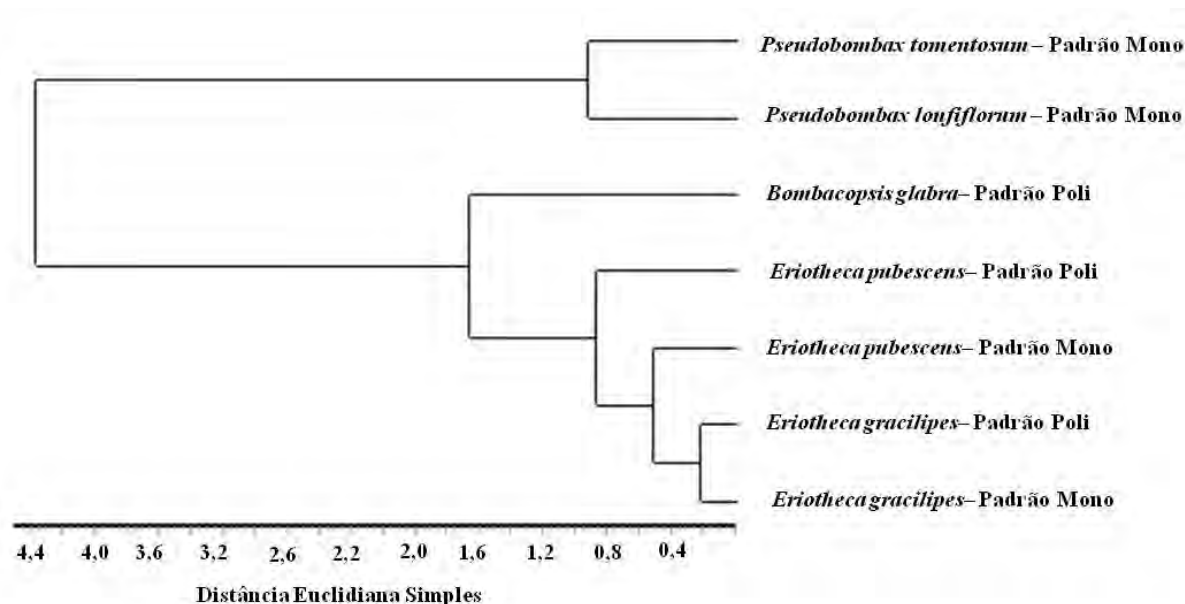


Figura 5. Análise de agrupamento pelo método UPGMA (ligação de grupos não-ponderados por média aritmética) de espécies de Bombacoideae (Malvaceae), com diferentes padrões de embrionia, em função da morfologia do fruto. Medidas adotadas para o agrupamento: comprimento e largura do fruto, comprimento do pedúnculo, número de sementes malformadas por fruto e número de sementes por fruto.

Legenda: Padrão Mono: indivíduos com sementes exclusivamente monoembriônicas, Padrão Poli: indivíduos com sementes poliembrionárias.

Embriologia - As análises embriológicas de sementes monoembriônicas (EP-PM) mostraram a formação de um saco embrionário do tipo *Polygonum* na fase de antese e a formação de um único zigoto em cada semente (Figura 1I). Não foram observadas indicações ou sinais da formação de embriões adventícios de origem assexuada, confirmando a origem sexuada dos embriões nesse padrão. As análises comparativas mostraram também a formação de um único zigoto e embriões sexuados para *Eriotheca candolleana* e para sementes monoembriônicas de *Eriotheca gracilipes* (EG-PM) (Figura 1K). Estes resultados contrastam com a formação de embriões adventícios a partir do nucelo nas sementes poliembrionárias de *Eriotheca pubescens* (EP-PP) (Figura 1J, mas ver detalhes em Mendes-Rodrigues *et al.* 2005). A origem dos

embriões de EG-PP não pode ser determinada, embora a posição dos embriões dentro da semente também indique a origem a partir de células do nucelo, pela similaridade com EP-PP.

Sistema de reprodução - Todos os indivíduos utilizados nos tratamentos somente produziram progênes com $2n=4x=184$, conforme as avaliações citogenéticas feitas para o ano de 2008. Não foi possível avaliar os indivíduos com $2n=3x=138$, por ausência de floração suficiente para a realização dos tratamentos. Os cruzamentos controlados mostraram que os indivíduos de *Eriotheca pubescens* com sementes monoembriônicas (EP-PM) são auto-incompatíveis e as taxas de frutificação para polinização cruzada e natural foram semelhantes aos resultados de outros estudos com *Eriotheca* (Tabela 4). Para *Eriotheca gracilipes* padrão poliembriônico (EG-PP) não foi possível a execução dos cruzamentos.

Tabela 4. Porcentagem de formação de frutos para tratamentos de polinização em *Eriotheca* spp. (Bombacoideae, Malvaceae) com padrões embriônicos contrastantes (Padrão Mono: indivíduos com sementes monoembriônicas e Padrão Poli: indivíduos com sementes poliembriônicas).

Espécies (padrão embriônico), Referência					
% de frutos formados (nº de flores tratadas)					
Tratamento	<i>E. pubescens</i> (Mono)	<i>E. pubescens</i> (Poli)		<i>E. gracilipes</i> (Mono)	
	Este estudo	Oliveira <i>et al.</i> (1992)	Mendes-Rodrigues (2005)	Oliveira <i>et al.</i> (1992)	Rodrigues (2000)
Autopolinização	0,00 (37)	15,00 (68)	13,24 (204)	0,00 (170)	0,00 (103)
Polinização cruzada	17,24 (29)	10,00 (67)	7,92 (101)	19,40 (185)	1,78 (56)
Polinização natural	7,50 (40)	6,00 (83)	33,33 (66)	9,62 (291)	1,01 (99)

Variabilidade genética entre progênies – As análises genéticas das progênies de EP-PM, EP-PP e EG-PM mostraram resultados de difícil interpretação e ainda incapazes de demonstrar a formação de embriões sexuados e assexuados no grupo (Figura 6). Foram encontrados padrões clonais diferentes em um mesmo indivíduos (indivíduos 7, 16 e 17 de EP-PP), a formação de clones em indivíduos presumivelmente sexuados de EG-PM e EP-PM (indivíduo2) e plântulas aparentemente idênticas entre as progênies de dois indivíduos monoembriônicos diferentes (indivíduos 11 e 10 de EP-PM).

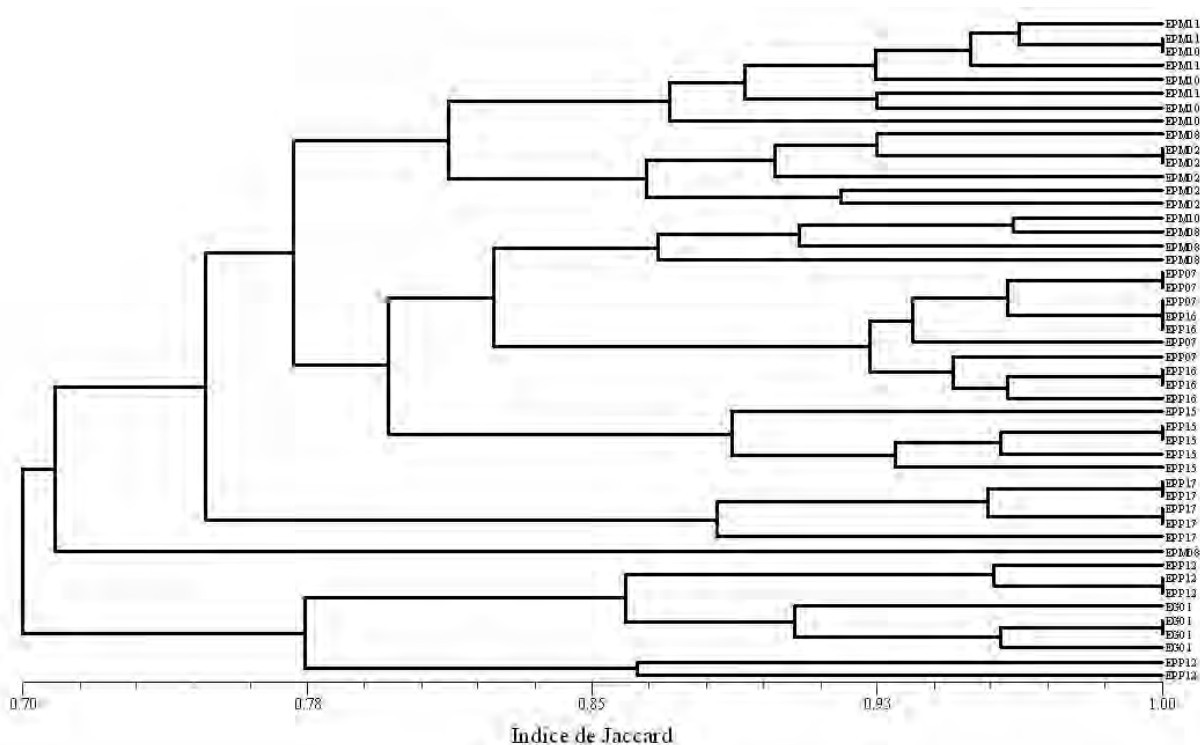


Figura 6. Análise de agrupamento pelo método UPGMA (ligação de grupos não-ponderados por média aritmética) a partir do Índice de Jaccard, para progênies de *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens* (Bombacoideae, Malvaceae), com diferentes padrões de embriônia, em função de marcadores moleculares tipo RAPD.

Legenda: EG: progênies monoembriônicas obtidas de indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca gracilipes*; EPM: progênies monoembriônicas obtidas de indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca pubescens*; EPP: progênies poliembriônicas obtidas de indivíduos poliembriônicas de *Eriotheca pubescens*; número do indivíduo avaliado ao lado da sigla da espécie.

Citogenética - As espécies de Bombacoideae e os padrões de embrionia *Eriotheca* apresentaram diferenças citotípicas marcadas (Tabela 5, Figura 7). Os indivíduos de *Eriotheca candolleana* foram diplóides com $2n=2x=92$ (Figura 7B) e os de *Bombacopsis glabra* foram diplóides com $2n=2x=88$ (Figura 7A). Os indivíduos de *Eriotheca gracilipes* padrão monoembriônico (EG-PM) foram diplóides com $2n=2x=92$ (Figura 7C) enquanto os indivíduos poliembrionicos (EG-PP) foram hexaplóides com $2n=6x=276$ (Figura 7D). Os indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca pubescens* (EP-PM) mostraram dois citótipos, um aparentemente triplóide com $2n=3x=138$ (Figura 7E) e outro tetraplóide com $2n=4x=184$ (Figura 7F). Nesta espécie, os indivíduos poliembrionicos (EP-PP) mostraram-se hexaplóides com $2n=6x=276$ (Figura 7G). Finalmente, os indivíduos de *Pseudobombax longiflorum* e de *Pseudobombax tomentosum* foram diplóides com $2n=2x=92$ (Figuras 7H e 7I).

Tabela 5. Números cromossômicos obtidos a partir de metáfases em ponta de radículas para espécies de Bombacoideae (Malvaceae) com diferentes padrões de embrionia (Monoembriônico: indivíduos com sementes exclusivamente monoembriônicas, Poliembrionico: indivíduos com sementes predominantemente poliembrionicas).

Espécie	Padrão de Embrionia	Ano de Coleta	Nº de indivíduos amostrados	Nº de células contadas	Nº de progênies avaliadas	2n
<i>Bombacopsis glabra</i>	Poliembriônico	2008	1	20	6	88
<i>Eriotheca candolleana</i>	Monoembriônico	2007	2	20	2	92
<i>Eriotheca gracilipes</i>	Monoembriônico	2007	3	20	5	92
	Poliembriônico	2008	5	25	11	276
<i>Eriotheca pubescens</i>	Monoembriônico	2007	2	16	7	138
		2007	1	2	1	184
		2008	4	27	10	184
		2009	2	8	2	184
	Poliembriônico	2008	5	22	12	276
<i>Pseudobombax longiflorum</i>	Monoembriônico	2008	3	22	8	88
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	Monoembriônico	2008	6	20	10	88

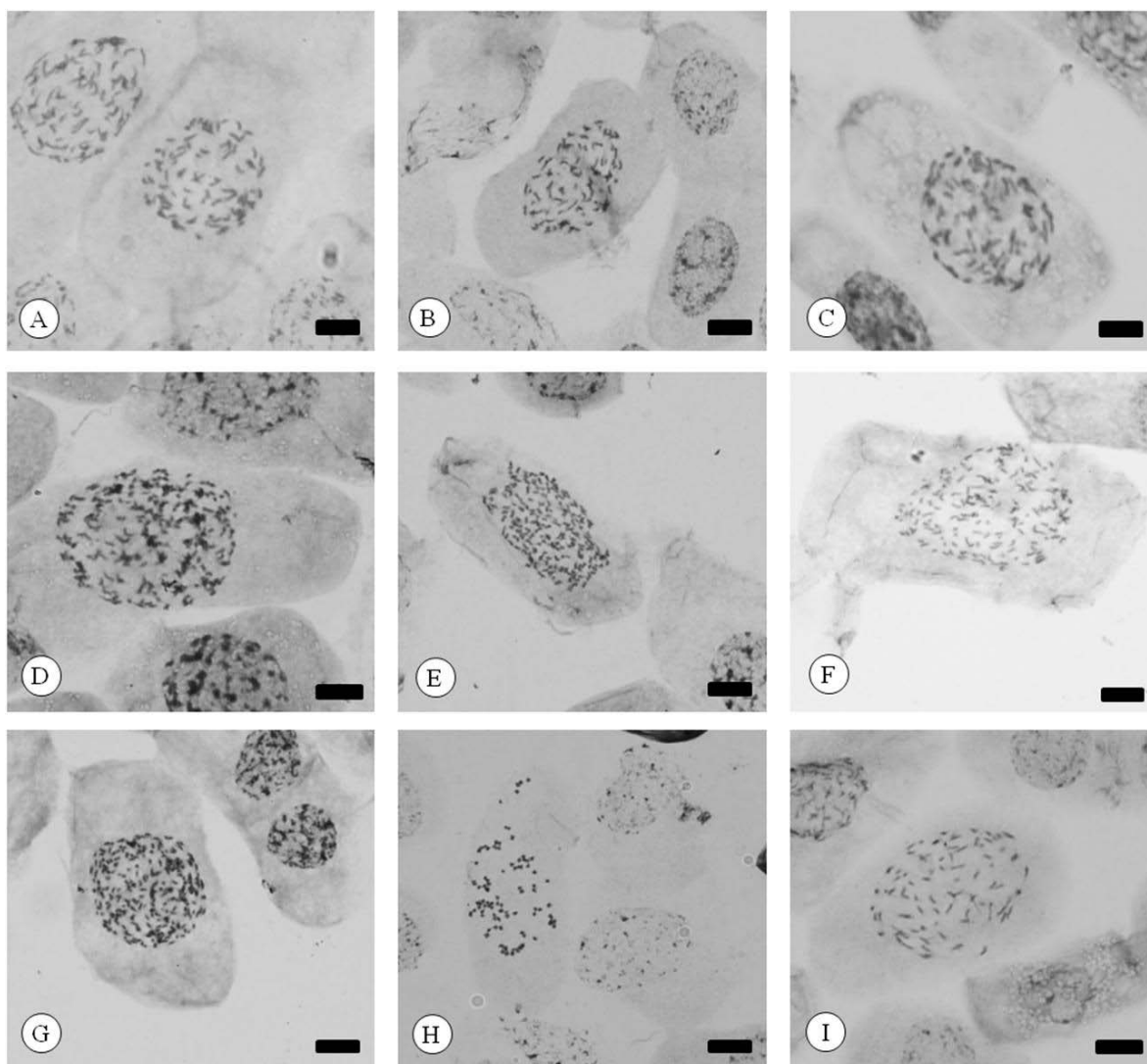


Figura 7. Placas metafásicas mitóticas obtidas a partir de ponta de radículas de espécies de Bombacoideae (Malvaceae) com diferentes padrões de embriônia. As placas foram obtidas pelo método de esmagamento e coloração com Giemsa.

Legenda: Padrões de embriônia observados: PM - indivíduos com sementes exclusivamente monoembriônicas e PP - indivíduos com sementes poliembriônicas.

Fig. 7A: *Bombacopsis glabra* - PP - $2n=2x=88$; **Fig. 7B:** *Eriotheca candolleana* - PM - $2n=2x=92$; **Fig. 7C:** *Eriotheca gracilipes* - PM - $2n=2x=92$; **Fig. 7D:** *Eriotheca gracilipes* - PP - $2n=6x=276$; **Fig. 7E:** *Eriotheca pubescens* - PM - $2n=3x=138$; ; **Fig. 7F:** *Eriotheca pubescens* - PM - $2n=4x=184$; **Fig. 7G:** *Eriotheca pubescens* - PP - $2n=6x=276$; **Fig. 7H:** *Pseudobombax longiflorum* - PM - $2n=2x=88$ e **Fig. 7I:** *Pseudobombax tomentosum* - PM - $2n=2x=88$. Escalas 10 μ m.

Discussão

Ocorrência de poliembrionia – O nível de poliembrionia foi variável entre *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens*. Em *Eriotheca pubescens* foram observadas diferenças em relação a outros estudos como o percentual de sementes poliembrionicas $PSP = 75\%$ (Oliveira *et al.* 1992) e a formação de 2 a 6 plântulas por semente e $PSP = 3\%$ (Salomão & Allem 2001) e de 1 a 28 embriões por semente, $NMES = 3,43$ e $PSP = 78\%$ (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005). O $NMES$ nessa espécie varia em função dos frutos, indivíduos, populações, fonte de pólen utilizado no cruzamento e densidade de indivíduos no campo (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005). Esses resultados são similares a outras espécies do grupo como *Bombacopsis glabra* com 1 a 5 embriões por semente (Baker 1960) e *Bombax kimuenzae* De Wildeman & T. Durand. com 1 a 4 plântulas por semente (Robyns 1959). A ocorrência de poliembrionia é rara, mas também presente em outros grupos de Malvaceae, tais como *Gossypium hirsutum* L. (Blank & Allison 1963), *Corchorus* (Carman 1997) e *Theobroma cacao* L. (Martinson 1972).

As relações entre os padrões de embrionia e as características ambientais encontradas ainda carecem de explicações mais claras. A relação entre altitude e poliembrionia em EP-PP pode ser gerada pela capacidade nutritiva do solo ou outro fator correlacionado à altitude e ainda desconhecido. Fatores ambientais, e.g. fotoperíodo (Knox 1967), têm sido relacionados com a expressão de reprodução assexuada. Estudos têm demonstrado que populações assexuadas ocupam maiores altitudes e latitudes, e freqüentemente estão em áreas periféricas em relação a populações sexuadas (Glesener & Tilman 1978, Bierzychudek 1985, 1989). Gradientes quanto a características químicas de solo correlacionados com altitude são encontrados no cerrado e parecem capazes de afetar a biologia de sementes (Mendes-Rodrigues *et al.* 2010).

O único fator testado para a variação da poliembrionia em EG-PP foi o fator indivíduo, o que dificulta determinar se a poliembrionia nesta espécie tem o mesmo padrão de

variação que EP-PP, embora os resultados para esse fator sejam muito similares entre as duas espécies. Em outros estudos demonstrando diferentes fontes de variação para a poliembrião o fator indivíduo que tem forte efeito sobre a variação no *NMES*, explicando até 51% da variância entre tratamentos de polinização (Schmidt & Antlfinger 1992). A variação intra-específica no *NMES* é comum para outras espécies poliembriônicas como *Inga laurina* (Sw.) Willd (Mendes-Rodrigues *et al.* 2008b), sendo descrita variação populacional em *Clidemia hirta* (L.) D. Don. (Mendes-Rodrigues *et al.* 2008a) e variação anual em *Spiranthes cernua* (L.) Rich. (Schmidt & Antlfinger 1992).

Como encontrado para *Eriotheca pubescens* (EP-PP), a distribuição geográfica mais ampla dos indivíduos apomíticos é comum para outras espécies apomíticas quando comparadas às espécies congênicas sexuadas (Asker & Jerling 1992). Os dados de EG-PP ainda são insuficientes para afirmar que os indivíduos poliembriônicos nesse grupo são mais restritos, devido à amostragem de uma pequena área, mas de qualquer forma as espécies de *Eriotheca* parecem ter distribuições contrastantes quanto ao padrão de embrião. Distribuição ampla para espécies e populações assexuadas é mais comumente descrita para apomíticos gametofíticos como *Taraxacum officinale* s.l. (Verduijn *et al.* 2004) e *Paspalum simplex* Morong ex Britton (Urbani *et al.* 2002). Este padrão geral parece ser consistente quando são comparadas espécies sexuadas e assexuadas, como descrito para *Crepis* e *Taraxacum* (Richards 1986), Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998) e Poaceae (Savidan 1985) e para outros taxa diversos (Mogie 1992).

As espécies de *Eriotheca* parecem mostrar os dois extremos de comportamento de distribuição de espécies apomíticas. O primeiro padrão de distribuição apresenta os indivíduos sexuados ocupando o centro da distribuição dos indivíduos assexuados, como em *Eriotheca pubescens*, padrão mais comum e descrito para *Crepis* (Babcock & Stebbins 1938), *Eupatorium* (Sullivan 1976), *Parthenium* (Rollins 1949) e *Townsendia* (Beaman 1957). Um segundo padrão apresenta os indivíduos assexuados ocupando o centro de distribuição dos

indivíduos sexuados, como parece acontecer em *Eriotheca gracilipes*, padrão mais raro e descrito para *Antennaria* (Porsild 1965), *Calamagrostis* (Gustafsson 1946), *Dichanthium* (Celarier *et al.* 1958) e *Sorbus* (Fahraeus 1980). Essas diferenças no padrão de distribuição podem estar associadas ao tempo de origem de cada um dos grupos poliembriônicos, com grupos mais antigos sendo mais amplamente distribuídos (Bierzychudek 1985) ou ainda estar associadas com a capacidade de dispersão de cada grupo.

As espécies de *Eriotheca* com mosaicos reprodutivos apresentam forma de dispersão similar entre si e em *Eriotheca gracilipes*, até mesmo o número de sementes por fruto é o mesmo para os dois padrões de embrionia, mas os indivíduos com sementes poliembriônicas e possivelmente apomíticos apresentam maior número de frutos por planta (Clesnan Mendes-Rodrigues, observação pessoal). Tais diferenças podem indicar maior capacidade de dispersão dos indivíduos apomíticos e explicar a distribuição mais ampla dos indivíduos poliembriônicos, pelo menos em *Eriotheca pubescens*.

A maior capacidade de colonização de espécies assexuadas tem sido proposta como um dos fatores capazes de explicar a maior distribuição de seus indivíduos (Bierzychudek 1985). Outro fator que parece ser associado à distribuição das espécies assexuadas é a presença de genótipos mais generalistas e capazes de se estabelecer em ambientes diferentes. Alguns autores têm demonstrado esta idéia, como em *Pennisetum setaceum* Forsk. Chiov. que possui um único genótipo com distribuição global (Roux *et al.* 2007) e *Rubus pensilvanicus* Poiret onde genótipos assexuados têm maior área de distribuição que genótipos de espécies sexuadas (Nybom & Schaal 1990). Tais genótipos flexíveis de plantas apomíticas, originados comumente de processos de hibridação e aloploidia (Hörandl 2010), poderiam compensar a menor variabilidade genética comumente associada à apomixia (Hörandl 2004)

A menor variabilidade morfológica de EP-PP, evidenciada pelos menores valores de CV, poderiam indicar menor número de genótipos nesse padrão que poderia ser compensado pelo “propósito geral” desses genótipos. Em *Panicum maximum* Jacq., populações assexuadas

mostraram valores menores de CV do que as populações sexuadas (Usberti Jr. & Jain 1978). A correlação entre a variação genética, morfológica e de ploidia deve ser analisada com ressalvas uma vez que pode não ocorrer, como observado para *Ranunculus* (Hörandl 2002).

Biometria – Embora as medidas de frutos sejam diferentes entre padrões mono e poli, ocorre sobreposição entre as medidas dos dois grupos o que dificulta a utilização dessas medidas para diagnose dos padrões. Estas dificuldades são comuns quando tenta-se comparar grupos sexuados e assexuados (Hörandl 2002, Hörandl *et al.* 2009), mesmo quando existem as diferenças de ploidia mostradas pelas populações de *Eriotheca*. Hörandl (2002) não encontrou diferenciação entre diplóides e tetraplóides sexuados de *Ranunculus cassubicifolius* W. Koch. Comparações entre a biometria de grupos monoembriônicos e poliembriônicos são inexistentes na literatura, sendo somente encontradas comparações entre a biometria de indivíduos sexuados e assexuados, essencialmente para espécies com apomixia gametofítica (Usberti Jr. & Jain 1978, Hörandl *et al.* 2001, Hörandl 2002, Hörandl *et al.* 2009).

Embriologia - A origem sexuada dos embriões de *Eriotheca pubescens* (EP-PM) foi confirmada pelos dados embriológicos e, parcialmente, pelas análises genéticas da progênie, sendo que o padrão de formação do embrião sexuada é muito similar ao já encontrado para os indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca candolleana* (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005).

Embora as análises genéticas tenham demonstrado ocorrência maior de variabilidade entre as progênies de EP-PM, comparadas às EP-PP, foram observadas muitas incongruências. Uma delas foi a ocorrência de mais de um padrão clonal em um mesmo indivíduo, cuja ocorrência só é possível em caso de clivagem do embrião sexuada, além da ocorrência de clones entre indivíduos diferentes de EP-PM, que somente poderia ocorrer se houvesse reprodução assexuada nos indivíduos. É possível que essas incongruências sejam

devidas à baixa eficiência de marcadores RAPD para espécies poliplóides ou ainda ao baixo número de primers utilizado no estudo. Ainda são necessárias mais análises genéticas que corroborem a predominância da reprodução sexuada nas populações monoembriônicas desta espécie.

Sistema de reprodução – A auto-esterilidade encontrada para EP-PM é coerente com o padrão da família onde a maioria das espécies é auto-incompatível, como *Adansonia gibbosa* (A. Cunn.) Baum ex Guymmer (Baum 1995), *Eriotheca gracilipes* (Oliveira *et al.* 1992), *Eriotheca candolleana* (João Semir, dados não publicados), *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. (Gribel *et al.* 1999), *Ceiba chodatii* (Hassl.) Ravenna e *Ceiba speciosa* (A. St.-Hil.) Ravenna (Gibbs & Bianchi 1993), *Durio zibethinus* Murray (Bumrungsri *et al.* 2009), *Pseudobombax munguba* (Mart. et Zucc.) Dugand. (Gribel & Gibbs 2002). A presença de autofertilidade é mais comum em espécies com apomixia esporofítica como *Eriotheca pubescens* (Oliveira *et al.* 1992) e *Bombacopsis glabra* (Baker 1960, Duncan 1970), que necessitam pseudogamia, fertilização e formação de endosperma, para o desenvolvimento dos embriões adventícios. A auto-incompatibilidade tardia, comum no grupo (Gibbs & Bianchi 1999), pode funcionar como uma pré-adaptação para a pseudogamia, sendo que nas plantas auto-estéreis como EP-PM, ocorre aborto dos pistilos, enquanto naquelas onde existem embriões apomíticos ou algum percentual de polinização cruzada, ocorre o desenvolvimento dos frutos. Estudos genéticos têm demonstrado a ocorrência de sistema de acasalamentos mistos em *Cavanillesia platanifolia* (H. & B.) H.B.K. (Murawski & Hamrick 1992) e *Ceiba petandra* (Lobo *et al.* 2005).

Citogenética – Os números cromossômicos encontrados para as espécies foram, de maneira geral, coerentes com os números já publicados por outros estudos (Baum & Oginuma 1994). Apesar de variações citotípicas a nível específico serem conhecidas em Bombacoideae, a

formação de séries poliplóides completas como as encontradas em *Eriotheca* é conhecida somente para *Adansonia suarezensis* H. Perrier e *Durio zibethinus* (Baum & Oginuma 1994). A ausência do padrão diplóide e a ocorrência de triplóides para *Eriotheca pubescens* indica a necessidade de amostragem de outras populações para o melhor entendimento dos padrões do grupo, e permitiria a confirmação da possibilidade de *Eriotheca pubescens* ter sido originada a partir de hibridizações e poliploidizações entre táxons diferentes.

Indivíduos com ploidia intermediária são encontrados em populações mistas de complexos agâmicos, tais como triplóides em populações mistas de *Ranunculus notabilis* Hörandl & Guterman e *Ranunculus variabilis* Hörandl & Guterman (Hörandl *et al.* 2000). Testes preliminares, embora com n baixo (n=5), mostraram incompatibilidade entre os citótipos diplóides de *Eriotheca gracilipes* e tetraplóides de *Eriotheca pubescens* (Clesnan Mendes-Rodrigues, observações pessoais), provavelmente gerada por barreiras zigóticas, uma vez que os pistilos caíram depois de seis dias (entre 10-15 dias), tempo comumente encontrado para queda de pistilos auto-polinizados em espécies do grupo (Oliveira *et al.* 1992, Gribel *et al.* 1999).

Embora possam existir várias rotas para a formação dos citótipos em *Eriotheca*, poderíamos hipotetizar duas delas, uma a partir de processos de autopoliploidização e outra por hibridização seguida de poliploidização. A partir de autopoliploidização, uma espécie com o padrão $2x=2n$ sofreria poliploidização e daria origem a tetraplóides $2x=4n$ ou ploidias maiores e, a partir de introgressão, poderiam ser formadas ploidias intermediárias. Na segunda rota, a única diferença é a origem híbrida do padrão inicial de $2n=2x$, a partir de dois táxons diferentes e, em seguida, os passos procederiam da mesma forma. Os padrões poliplóides e monoembriônicos poderiam ter sido originados a partir de autopoliploidizações e mantida a sexualidade, uma vez que ocorre balanço entre os cromossomos. As formas hexaplóides e poliembriônicas teriam surgido de hibridizações fixadas por poliploidização, de maneira que

os genomas diferentes e a expressão assíncrona de genes duplicados poderiam explicar a apomixia (Carman 1997).

Os resultados aqui apresentados mostram relação clara entre poliploidia e poliembria em *Eriotheca*. Espécies e populações poliembriônicas foram, de maneira geral, poliplóides, enquanto as populações monoembriônicas foram, de maneira geral, diplóides e são aparentemente sexuadas. As únicas exceções foram os indivíduos monoembriônicos de *Eriotheca pubescens*, que apresentaram dois citótipos poliplóides. Muitos autores acreditam que a maior capacidade de dispersão, colonização e tamanhos dos grupos assexuados estejam muito mais associados à ocorrência de poliploidia do que à presença de reprodução assexuada (Bierzuchudek 1985).

Os dados de *Eriotheca* corroboram a possibilidade de correlação entre ampla distribuição geográfica, autocompatibilidade, poliploidia e apomixia. Tais correlações são muito comuns em espécies com apomixia gametofítica (Asker & Jerling 1992, Carman 1997), embora sua ocorrência em espécies com apomixia esporofítica tenha sido anteriormente desacreditada (Hörandl 2010). Outra espécie, *Durio zibethinus*, com variação no sistema reprodutivo e variação na ploidia, não tem registros de ploidia para as populações estudadas para o sistema reprodutivo (Bumrungsri *et al.* 2009), o que dificulta maiores generalizações. Aparentemente muitas das tendências encontradas para espécies com apomixia gametofítica também podem ser aplicadas a espécies com apomixia esporofítica, já que muitas dessas relações foram também encontradas para *Eriotheca* e outros grupos como Bignoniaceae (Sampaio 2010).

Aparentemente, a ocorrência de poliploidia não causa apomixia e autocompatibilidade em Bombacoideae, uma vez que EP-PM apresenta indivíduos aparentemente tetraplóides com auto-incompatibilidade e reprodução sexuada e indivíduos triplóides monoembriônicos. Por outro lado, *Bombacopsis glabra* apresenta indivíduos diplóides, apomíticos e autocompatíveis. Exceções a essa generalização para espécies apomíticas são raras, mas

conhecidos como tetraplóides sexuados em *Ranunculus cassubicifolius* W. Koch (Hörandl & Greilhuber 2002) e diplóides apomíticos em *Allium tuberosum* Rottl. ex Spreng. (Kojima & Nagato 1997), *Boechera holboellii* (Hornem.) A. Love & D. Love. (Kantama *et al.* 2007), *Hierochloe australis* Roem. & Schult. (Weimarck 1967), *Parthenium argentatum* A.Gray (Gerstel & Mishanec 1950), *Potentilla argentea* L. (Müntzing 1928; Asker 1971), *Ranunculus auricomus* (Nogler 1982), *Themeda australis* (R.Br.) Stapf (Evans & Knox 1969) and *Waldsteinia geoides* Willd. (Czapik 1985). Apesar da diploidia em *Bombacopsis glabra*, Bombacoideae é considerada uma subfamília paleopoliplóide, com variação no número cromossômico de 28 a 276 (Baum & Oginuma 1994), o que justificaria a presença de apomixia, uma vez que estudos têm demonstrado que espécies diplóides apomíticas estão associadas a espécies paleopoliplóides (Carman 1997, Doyle *et al.* 2004, Eckard 2004, Rong *et al.* 2005).

Eriotheca mostrou-se um grupo com ampla variação no sistema reprodutivo, com a presença de espécies monoembriônicas ou poliembriônicas, sexuadas ou apomíticas. Esta variação parece resultar em mosaicos reprodutivos em algumas das espécies estudadas, com populações espacialmente diferenciadas e talvez associadas a determinadas características ambientais. Essa variação parece estar relacionada a mudanças na poliploidia e no sistema reprodutivo, mostrando que espécies com apomixia esporofítica podem apresentar o mesmo comportamento que aquelas com apomixia gametofítica, ou seja, poliploidia e ampla distribuição geográfica. Além disso, reforça que somente a presença de poliploidia não é capaz de desencadear a apomixia e a quebra do sistema de compatibilidade nesse grupo, já que ocorre a presença de poliplóides não apomíticos.

Agradecimentos: Agradeço a Diana Salles Sampaio, Felipe Wanderley Amorim, Marcela Yamamoto, Rivane Neumann Simão e ao Laboratório de Conservação Genética de Espécies Arbóreas de pelo auxílio durante a execução do trabalho. Este trabalho foi parcialmente

financiado pela FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, e executado em colaboração com Dulcinéia de Carvalho, Julia Yamagishi-Costa, Luciana Nascimento Custodio, Rafaela Cabral Marinho e Renata Carmo-Oliveira.

Referências Bibliográficas

- ASKER, S. 1971. Apomixis and sexuality in the *Potentilla argentea* complex. III. Euploid and aneuploid derivatives (including trisomics) of some apomictic biotypes. *Hereditas* 67:111-142.
- ASKER, S.E. & JERLING, L. 1992. Apomixis in plants. 1th ed., CRC Press, Boca Raton.
- BABCOCK, E.B. & STEBBINS JR., G.L. 1938. The American species of *Crepis*: their interrelations and distribution as affected by polyploidy and apomixis. 1th ed., Carnegie Institution of Washington, Washington.
- BAKER, H.G. 1960. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). *American Journal of Botany* 47:296-302.
- BAUM, D.A. 1995. The comparative pollination and floral biology of baobabs (*Andasonia* - Bombacaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82:322-348.
- BAUM, D.A. & OGINUMA, K. 1994. A review of chromosome number in Bombacaceae with new counts for *Andasonia*. *Taxon* 43:11-20.
- BEAMAN, J.H. 1957. The systematics and evolution of *Townsendia* (Compositae). *Contributions of the Gray Herbarium of Harvard University* 183:151.
- BERKOV. 2001. Size and alkaloid content of seeds in induced autotetraploids of *Datura innoxia*, *Datura stramonium* and *Hyoscyamus niger*. *Pharmaceutical Biology* 39:329-331.
- BIERZYCHUDEK, P. 1985. Patterns in plant parthenogenesis. *Experientia* 41:1255-1264.

- BIERZYCHUDEK, P. 1989. Environmental sensitivity of sexual and apomictic *Antennaria* - Do apomicts have general purpose genotypes. *Evolution* 43:1456-1466.
- BLANK, L.M. & ALLISON, D.C. 1963. Frequency of polyembryony in certain strains of *Gossypium hirsutum* L. *Crop Science* 3:97-98.
- BUMRUNGSRI, S., SRIPAORAYA, E., CHONGSIRI, T., SRIDITH, K. & RACEY, P.A. 2009. The pollination ecology of durian (*Durio zibethinus*, Bombacaceae) in southern Thailand. *Journal of Tropical Ecology* 25:85-92.
- CARMAN, J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society* 61:51-94.
- CELARIER, R.P., MEHRA, K.L. & WULF, M.L. 1958. Cytogeography of the *Dichanthium annulatum* complex. *Brittonia* 10:59-72.
- CZAPIK, R. 1985. Apomictic embryo sacs in diploid *Waldsteinia geoides* Willd. (Rosaceae). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 27:29-37.
- DOMINGUES, E.T., TULMANN NETO, A. & TEOFILO SOBRINHO, J. 1999. Pollen viability in sweet orange varieties. *Scientia Agricola* 56:265-272.
- DOYLE, J.J. & DOYLE, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- DOYLE, J.J., DOYLE, J.L., RAUSCHER, J.T. & BROWN, A.H.D. 2004. Diploid and polyploid reticulate evolution throughout the history of the perennial soybeans (*Glycine* Subgenus *Glycine*). *New Phytologist* 161:121-132.
- DUNCAN, E.J. 1970. Ovule and embryo ontogenesis in *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns. *Annals of Botany* 34:677-683.
- ECKARD, N.A. 2004. Two genomes are better than one: widespread paleopolyploidy in plants and evolutionary effects. *Plant Cell* 16:1647-1649.
- EVANS, L.T. & KNOX, R.B. 1969. Environmental control of reproduction in *Themeda*

- australis*. Australian Journal of Botany 17:375-389.
- FAHRAEUS, G. 1980. *Sorbus teodori* and its distribution in Gotland, Sweden. Svensk Botanisk Tidskrift 74:377-382.
- GERSTEL, D.U. & MISHANEC, W.M. 1950. On the inheritance of apomixis in *Parthenium argentatum*. Botanical Gazette 112:96-106.
- GIBBS, P.E. & BIANCHI, M. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility. Botanica Acta 106:64-71.
- GIBBS, P.E. & BIANCHI, M. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering two more species of Bignoniaceae with LSI: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. Annals of Botany 84:449-457.
- GLESENER, R.R. & TILMAN, D. 1978. Sexuality and the components of environmental uncertainty: clues from geographic parthenogenesis in terrestrial animals. The American Naturalist 112:659-673.
- GRIBEL, R., GIBBS, P.E. & QUEIRÓZ, A.L. 1999. Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. Journal of Tropical Ecology 15:247-263.
- GRIBEL, R. & GIBBS, P.E. 2002. High outbreeding as a consequence of selfed ovule mortality and single vector bat pollination in the Amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). International Journal of Plant Sciences 163:1035-1043.
- GUERRA, M. 1983. Introdução a citogenética geral. 1th ed., Editora Guanabara, Rio de Janeiro.
- GUSTAFSSON, A. 1946. Apomixis in higher plants. Part III. Biotype and species formation. Lunds Universitets Arsskrift N.F. Adv. 2 43:181-370.
- HÖRANDL, E., GREILHUBER, J. & DOBES, C. 2000. Isozyme variation within the apomictic *Ranunculus auricomus* complex: evidence for a sexual progenitor species in

- southeastern Austria. *Plant Biology* 2:1-10.
- HÖRANDL, E., JAKUBOWSKY, G. & DOBEŠ, C. 2001. Isozyme and morphological diversity within apomictic and sexual taxa of the *Ranunculus auricomus* complex. *Plant Systematics and Evolution* 226:165-185.
- HÖRANDL, E. & GREILHUBER, J. 2002. Diploid and autotetraploid sexuals and their relationships to apomicts in the *Ranunculus cassubicus* group: insights from DNA content and isozyme variation. *Plant Systematics and Evolution* 234:85-100.
- HÖRANDL, E. 2002. Morphological differentiation within the *Ranunculus cassubicus* group compared to variation of isozymes, ploidy levels, and reproductive systems: implications for taxonomy. *Plant Systematics and Evolution* 233:65-78.
- HÖRANDL, E. 2004. Comparative analysis of genetic divergence among sexual ancestors of apomictic complexes using isozyme data. *International Journal of Plant Sciences* 165:615-622.
- HÖRANDL, E., GREILHUBER, J., KLÍMOVÁ, K., PAUN, O., TEMSCH, E., EMADZADE, K. & HODÁLOVÁ, I. 2009. Reticulate evolution and taxonomic concepts in the *Ranunculus auricomus* complex (Ranunculaceae): insights from analysis of morphological, karyological and molecular data. *Taxon* 58:1194-1215.
- HÖRANDL, E. 2010. The evolution of self-fertility in apomictic plants. *Sexual Plant Reproduction* 23:73-86.
- JASKANI, M.J., KWON, S.W. & KIM, D.H. 2005. Comparative study on vegetative, reproductive and qualitative traits of seven diploid and tetraploid watermelon lines. *Euphytica* 145:259-268.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. 1th ed., W.H. Freeman, San Francisco.
- KANTAMA, L., SHARBEL, T.F., SCHRANZ, M.E., MITCHELL-OLDS, T., VRIES, S.D. & JONG, H.D. 2007. Diploid apomicts of the *Boechera holboellii* complex display

- large-scale chromosome substitutions and aberrant chromosomes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104:14026-14031.
- KNOX, R.B. 1967. Apomixis: Seasonal and population differences in a Grass. Science 157:325-326.
- KOJIMA, A. & NAGATO, Y. 1997. Discovery of highly apomictic and highly amphimictic dihaploids in *Allium tuberosum*. Sexual Plant Reproduction 10:8-12.
- KOLTUNOW, A.M. 1993. Apomixis: embryo sac and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. The Plant Cell 5:1425-1437.
- KRAUS, J. & ARDUIN, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. 1th ed., EDUR, Seropédica, RJ.
- LERSTEN, N.R. & CURTIS, J.D. 1988. Secretory reservoirs (ducts) os two kinds in Giant Ragweed (*Ambrosia trifida*, Asteraceae). American Journal of Botany 75:1313-1323.
- LOBO, J.A., QUESADA, M. & STONER, K.E. 2005. Effects of pollination by bats on the mating system of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) populations in two tropical life zones in Costa Rica. American Journal of Botany 92:370-376.
- MARTINSON, V. 1972. Polyembryony in *Theobroma cacao* L. Annals of Botany 36:947-951.
- MCDOWELL, E.M. & TRUMP, B. 1976. Histological fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 100:405-414.
- MENDES-RODRIGUES, C., CARMO-OLIVEIRA, R., TALAVERA, S., ARISTA, M., ORTIZ, P.L. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). Plant Biology 7:533-540.
- MENDES-RODRIGUES, C.M., RANAL, M. & OLIVEIRA, P.E. 2008. Could seed dormancy and polyembryony explain the success of *Clidemia hirta* (L.) D. Don. (Melastomataceae)? , IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Embrapa Cerrados, Brasília.

- MENDES-RODRIGUES, C.M., RANAL, M. & SANTANA, D.G. de 2008. Seedling emergence and polyembryony in two species of *Inga* (Mimosaceae). IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Embrapa Cerrados, Brasília.
- MENDES-RODRIGUES, C., ARAÚJO, F.P.D., BARBOSA-SOUZA, C., BARBOSA-SOUZA, V., RANAL, M.A., SANTANA, D.G. de & OLIVEIRA, P.E. 2010. Multiple dormancy and maternal effect on *Miconia ferruginata* (Melastomataceae) seed germination, Serra de Caldas Novas, Goiás, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 33:93-105.
- MOGIE, M. 1992. The evolution of asexual reproduction in plants. 1th ed., Chapman & Hall, London.
- MÜNTZING, A. 1928. Pseudogamie in der gattung *Potentilla*. *Hereditas* 11:267-283.
- MURAWSKI, D.A. & HAMRICK, J.L. 1992. The mating system of *Cavanillesia platanifolia* under extremes of flowering-tree density: A test of predictions. *Biotropica* 24:99-101.
- NOGLER, G.A. 1982. How to obtain diploid apomictic *Ranunculus auricomus* plants not found in the wild state. *Botanica Helvetica* 92:13-22.
- NUISMER, S.L. & THOMPSON, J.N. 2009. Plant polyploidy and non-uniform effects on insect herbivores. *Proceedings of the Royal Society B - Biological Sciences* 268:1937-1940.
- NYBOM, H. & SCHAAL, B.A. 1990. DNA "Fingerprints" reveal genotypic distributions in natural populations of blackberries and raspberries (*Rubus*, Rosaceae). *American Journal of Botany* 77:883-888.
- OLIVEIRA, P.E., GIBBS, P.E., BARBOSA, A.A. & TALAVERA, S. 1992. Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. *Plant Systematics and Evolution* 179:207-219.
- PORSILD, A.E. 1965. The genus *Antennaria* in eastern arctic and subarctic America. *Saetryk*

- af Botanisk Tidsskrift 61:22-55.
- RAMSEY, J. & SCHEMSKE, D.W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:467-501.
- RIBEIRO JÚNIOR, J.I. 2001. Análises estatísticas no SAEG. 1th ed., UFV, Viçosa.
- RICHARDS, A.J. 1986. Plant breeding systems. 1th ed., George Allen & Unwin, London.
- ROBYNS, A. 1959. Note préliminaire sur la polyembryonie dans *Bombax kimuenzae* de Wild. et. Th. Dur. *Bulletin du Jardin Botanique de L'Etat a Bruxelles* 29:23-26.
- RODRIGUES, C.M. 2001. Biologia reprodutiva de *Eriotheca* (Bombacaceae) em cerrados e matas do Brasil Central. Monografia de Bacharelado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- ROLLINS, R.C. 1949. Sources of genetic variation in *Parthenium argentatum* Gray (Compositae). *Evolution* 3:358-368.
- RONG, J., BOWERS, J.E., SCHULZE, S.R., WAGHMARE, V.N., ROGERS, C.J., PIERCE, G.J., ZHANG, H., ESTILL, J.C. & PATERSON, A.H. 2005. Comparative genomics of *Gossypium* and *Arabidopsis*: unraveling the consequences of both ancient and recent polyploidy. *Genome Research* 15:1198-1210.
- ROUX, J.J.L., WIECZOREK, A.M., WRIGHT, M.G. & TRAN, C.T. 2007. Super-genotype: Global monoclonality defies the odds of nature. *Plos ONE* 2:e590.
- SALOMÃO, A.N. & ALLEM, A.C. 2001. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. *Acta Botanica Brasilica* 15:369-378.
- SAMPAIO, D.S. 2010. Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- SASS, J.E. 1951. Botanical microtechnique. 1th ed., The Iowa State College Press, Iowa.
- SAVIDAN, Y.H. 1985. Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia. *In* I Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas. Tópicos de Citogenética e

- Evolução de Plantas. (M.L.R. Aguiar-Perecin, P.S. Martins & G. Brandel, eds.). Sociedade Brasileira de Genética, Piracicaba, p.37-50.
- SCHMIDT, J.M. & ANTLFINGER, A.E. 1992. The level of agamospermy in a Nebraska population of *Spiranthes cernua* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 79:501-507.
- SCIOLI, M.E. 1981. A physiological investigation of seed germination and salt tolerance in a polyploid series of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. Master's Thesis, Texas Tech University, Lubbock.
- SCOTT, R.J., SPIELMAN, M., BAILEY, J. & DICKINSON, H.G. 1998. Parent-of-origin effects on seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 125:3329-3341.
- SHEPHERD, G.J. 2006. Fitopac 1.6.4.
- SULLIVAN, V.I. 1976. Diploidy, polyploidy, and agamospermy among species of *Eupatorium* (Compositae). *Canadian Journal of Botany* 54:2907-2917.
- URBANI, M.H., QUARIN, C.L., ESPINOZA, F., PENTEADO, M.I.O. & RODRIGUES, I.F. 2002. Cytogeography and reproduction of the *Paspalum simplex* polyploid complex. *Plant Systematics and Evolution* 236:99-105.
- USBERTI JR., J.A. & JAIN, S.K. 1978. Variation in *Panicum maximum* - Comparison of sexual and asexual populations. *Botanical Gazette* 139:112-116.
- VERDUJN, M.H., VAN DIJK, P.J. & VAN DAMME, J.M.M. 2004. Distribution, phenology and demography of sympatric sexual and asexual dandelions (*Taraxacum officinale* s.l.): geographic parthenogenesis on a small scale. *Biological Journal of the Linnean Society* 82:205-218.
- WEIMARCK, G. 1967. Apomixis and sexuality in *Hierochloe australis* and in Swedish *H. odorata* on different polyploid levels. *Botanical Notiser* 120:209-235.
- WILMS, H.J., VAN WENT, J.L., CRESTI, M. & CIAMPOLINI, F. 1983. Adventive embryogenesis in *Citrus*. *Caryologia* 36:65-78.

Capítulo: 5

Can polyembryony affect seed germination and seedling development in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae – Bombacoideae)?

Artigo apresentado no formato de submissão do da revista American Journal of Botany.

**CAN POLYEMBRYONY AFFECT SEED GERMINATION AND SEEDLING DEVELOPMENT IN *ERIOTHECA*
PUBESCENS (MALVACEAE - BOMBACOIDEAE)?¹**

²Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Caixa Postal 593. Uberlândia –
Minas Gerais, Brazil. CEP 38400-902. Phone/FAX (5534) 32182243

Mendes-Rodrigues et al., - Polyembryony, seeds and seedlings of *Eriotheca* -

¹Manuscript received _____; revision accepted _____.

The authors thank R.N. Simão for help with field collections of fruits. P.E. Gibbs, P.L. Ortiz and M. Arista for English revision and comments. This work was partially funded by the Brazilian Research Council (CNPq) and the Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) as part of the Doctoral thesis of the first author in the Post-Graduate Program of Ecology and Conservation of Natural Resources – Universidade Federal de Uberlândia.

³Authors for correspondence (e-mail: poliveira@ufu.br, clesnan@hotmail.com)

ABSTRACT

Premise of the study Competition between siblings or closely related plant individuals for space and nutrients can have an impact on their growth and survival ability. An extreme situation in this sense would be that of a polyembryonic seed, where siblings, mostly clonal embryos, are exposed to competition from the beginning of their development inside seeds and throughout germination and seedling establishment.

Methods We studied the effect of polyembryony on seed germination, seedling emergence and growth in *Eriotheca pubescens*, a common tree in the Cerrado, Neotropical Savannas in Central Brazil, which presents either apomictic/polyembryonic or sexual/strictly

monoembryonic populations. We also studied germination and seedling growth process in the sympatric, monoembryonic and sexual *E. gracilipes*.

Key Results Polyembryony significantly reduced germinability and affected seedling initial growth in *E. pubescens*, although germination and emergence of seedlings from both monoembryonic and polyembryonic seeds were higher than in other sexual species in the family. Seedling biometry and biomass accumulation decrease with presence of polyembryony and with increase in the number of seedlings per seed, which has a marked effect on the post-seminal development. But seedling growth rate is less affected by polyembryony. Comparative analyses indicated that the effect of polyembryony was mostly on the initial size of the seedlings, which decreased with the number of embryos per seed. Post-germination competition does not change markedly the seedlings growth rate.

Conclusions Although smaller, these extra seedlings may enhance *per* seed survival chances in the Cerrado conditions of seasonal drought and frequent fires, and thus favours persistence of polyembryonic populations.

Keywords: apomixis, Cerrado, competition, gemelar seedlings, adventitious embryony, seedling emergence.

ABBREVIATION

CV_{ET}: coefficient of variation of emergence time

CV_{GT}: coefficient of variation of germination time

E: emergence

G: germinability

MET: mean emergence time

MGT: mean germination time

TFES: time for first emerged seedling

TLES: time for last emerged seedling

TFGS: time for first germinated seed

TLGS: time for last germinated seed

ZE: synchronization index of emergence

ZG: synchronization index of germination.

INTRODUCTION

Competition between individuals for space and nutrients can have an impact on plant growth, survival ability and reproductive output, and it may also affect the relative resource allocation and root/shoot ratio (Gersani et al., 2001; Rautiainen et al., 2004). Such competition effects can be even greater when plants are genetically closely related (Cheplick, 1992; Cheplick and Kane, 2004). Competition between siblings or closely related individuals is likely to be more intense because they use environmental resources in a very similar manner (Cheplick, 1992). An extreme situation in this sense would be that of a polyembryonic seed, where sibling embryos are exposed to competition from the beginning of their development (Uma-Shaanker and Ganeshiah, 1997), with further competition after seed germination when the seedlings struggle to establish themselves in very close proximity (Hotchkiss et al., 2008).

Polyembryony is the formation of extranumerary embryos in a seed, and it may arise from multiple fertilization events in an ovule or from cleavage/budding from sexual embryo (Batygina and Vinogradova, 2007). However, in the Angiosperms, most extranumerary embryos are adventitious embryos of nucellar or integumental origin, which are essentially clones of the mother-plant (Carman, 1997; Uma-Shaanker and Ganeshiah, 1997). The benefits of such adventitious embryos are somewhat enigmatic, on the one hand they may serve to increase maternal reproductive success or compensate for losses due to abnormal initial growth or development of any embryo (Uma-Shaanker and Ganeshiah, 1997; Porcher and Lande, 2005); but on the other hand, competition for resources between siblings is likely

to favour a reduction in adventitious embryo number, especially when the seed and embryo size are affected by physiological or ecological constraints (Uma-Shaanker et al., 1988; Hotchkiss et al., 2008). This competition for limited resources, which begins in early embryony, will persist during initial growth and establishment since siblings from a polyembryonic seed will share a limited space for germination (Ladd and Cappuccino, 2005; Hotchkiss et al., 2008). But to evaluate competition impact on polyembryonic seeds from early embryony, we would need comparable truly monoembryonic seeds. However, the few comparative experiments used levels of polyembryony obtained from polyembryonic populations and competition was evaluated after emergence only (e.g. Hotchkiss et al., 2008).

Polyembryony and apomixis have been reported for several species of the Bombacoideae (Malvaceae s.l., APG, 2003), previously Bombacaceae (Robyns, 1959; Baker, 1960; Duncan, 1970; Oliveira, et al., 1992; Mendes-Rodrigues et al., 2005). However, this is a mostly sexual and self-incompatible group of large tropical trees (Gibbs and Bianchi, 1993; Gribel et al., 1999; Gribel and Gibbs, 2002). *Eriotheca* (Bombacoideae) is a relatively small, bee pollinated Neotropical genus which had been previously included in the large genus *Bombax* before the last modern revision of the group (Robyns, 1963). Contrasting breeding systems have been recorded for *Eriotheca* species sympatric in the Cerrados (Neotropical savannas) in Central Brazil whilst *E. gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns is monoembryonic, sexual and self-incompatible, *E. pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott. & Endl. is self-fertile, mostly apomictic, with polyembryonic seeds (Oliveira et al., 1992; Mendes-Rodrigues et al., 2005) and apparently clonal individuals (Martins and Oliveira, 2003). In these *E. pubescens* populations, polyembryony seems to have a negative effect on the embryo mass and possibly seedling growth and establishment (Mendes-Rodrigues et al., 2005).

Recently, an isolated population of sexual individuals of *E. pubescens*, which produce strictly monoembryonic seeds, was observed and characterized (Mendes-Rodrigues et al., 2005; C. Mendes-Rodrigues, Universidade Federal de Uberlândia, unpublished data). The

occurrence of both sexual and apomictic populations of *E. pubescens* and the strictly monoembryonic sympatric *E. gracilipes*, provides an excellent opportunity to test the effect of polyembryony on seed germination and seedling development, and also to provide insights into the general impact of polyembryony on the fate of individual embryos.

We aimed, thus, to verify the possible effects of polyembryony on seed germination patterns, emergence and initial growth of seedlings of *E. pubescens* and *E. gracilipes*. We tested if polyembryony would lead to reduced germination and emergence and if in-seed competition and the number of seedlings emerging would affect negatively initial growth of seedlings originated of polyembryonic/apomictic vs. monoembryonic/sexual seeds.

MATERIAL AND METHODS

Studied species—*Eriotheca pubescens* and *E. gracilipes* are both common trees up to 8 m in the Cerrado areas in central Brazil, occurring from Maranhão to the north of São Paulo State, and from Bahia to Mato Grosso State. They flowering period occurs from May to September and fruiting periods, between September and October. Fruits are capsules, which release seeds amid a tuff of endocarp-derived hairs and are wind dispersed (Oliveira et al., 1992).

Study area—Individuals of *E. gracilipes* and *E. pubescens* were located in Cerrado areas around Uberlândia, Minas Gerais state (W 18° 59', S 0.48° 18') and Cristalina, Goiás state (W 16° 37', S 0.47° 44'), both in Central Brazil. Monoembryonic individuals of *E. pubescens* were found only in the latter area where they comprised a relatively isolated population. Breeding system experiments showed these monoembryonic individuals are sexual and self-incompatible (C. Mendes-Rodrigues, Universidade Federal de Uberlândia, unpublished data). Both areas are dominated by similar open savanna plant formations.

Monoembryonic and polyembryonic individuals of *E. pubescens* are indistinguishable other than in their seed embryology and reproductive features. For this reason, seed samples were collected from each individual in separate and examined previously to define embryonic patterns.

Seed collection and embryonic pattern—All seeds were collected directly from mature fruits on the trees in September of 2003. Fruits were collected just before capsule dehiscence and they were stored at room temperature (between 25 and 30 °C), and shade until opening. The seeds were then gathered and stored in paper bags under the same conditions from fruits until the germination experiments. We used only fruits that opened three days after collection in order to avoid the use of immature seeds.

The seeds of individuals of *Eriotheca* were classified in two patterns of seed embryony, monoembryonic and polyembryonic. *E. gracilipes* presented only monoembryonic seeds, whereas *E. pubescens* showed two markedly different patterns, monoembryonic pattern, from trees at the Cristalina population that produced exclusively monoembryonic seeds; and a polyembryonic pattern, from trees of other population apart from Cristalina, which produced an average of 78% of polyembryonic seeds (Mendes-Rodrigues et al., 2005). In these polyembryonic individuals, the remaining seed have a single embryo when mature. These single embryos may be polyembryonic in origin and monoembryony results from competition among embryos during seed development. In these polyembryonic trees, it is impossible to distinguish polyembryonic from monoembryonic seeds without dissection.

Seed germination and emergence—In order to assess differences in germination between seeds of *E. gracilipes* and *E. pubescens* monoembryonic (Cristalina population) and polyembryonic (remaining populations) patterns, we used four replicates of 25 seeds for each type. Seeds were sown inside plastic germination boxes with ca. 100 cm³ of vermiculite

moistened with distilled water and kept in a germination chamber (MDG2000, Seedburo Company, USA), at 25°C, 30% humidity, and continuous white fluorescent light (Photosynthetically Active Radiation mean = $11.90 \pm 6.52 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ SD). Substrates were moistened with distilled water, if necessary.

In order to monitor seedling emergence, seeds from the monoembryonic and polyembryonic patterns from *E. pubescens* were sown ca. 1 cm below surface in multicelled polystyrene germination trays filled with a commercial substrate (Plantmax[®], Eucatex Mineral Ltda, São Paulo, Brazil). The experiment was organized in two samples using 260 seeds for the polyembryonic pattern and 45 seeds for monoembryonic pattern. The trays were kept in a greenhouse under 50% of natural light and moistened with distilled water, if necessary.

Germinated seeds and emerged seedlings from the two experiments were counted every day. Germination criterion was protrusion of any part of embryo in the germination experiment. Appearance of any part of the seedling above soil was the criterion for the emergence experiment. For polyembryonic seeds we used the protrusion of the first embryo or emergence of the first seedling. All time measurements for polyembryonic seeds were based in time of protrusion of first embryo or in time of emergence of the first seedling for each seed.

The measurements calculated were Germinability (G) and emergence (E) rates (Labouriau 1983), mean germination time (MGT) and mean emergence time (MET) were used to evaluate duration of germination process (\bar{t} : Labouriau, 1970), and coefficient of variation of germination time (CV_{GT}) and coefficient of variation of emergence time (CV_{ET}) were used to evaluate the dispersion of the time around the mean time (CV_t : Ranal and Santana, 2006). Synchronization of germination (ZG) or emergence (ZE) process was measured using a synchronization index called Z (Ranal and Santana, 2006, adapted from Primack, 1980). See intermediate calculus of the germination measurements, the sense and applications of these measurements in Ranal and Santana (2006) and Ranal *et al.* (2009).

During the emergence experiment with *E. pubescens*, we recorded the number of seedlings produced per seed and this number was related with emergence time of the first seedling of each seed.

Seedling biometry—Samples of germinating seeds from monoembryonic pattern ($n = 20$) and polyembryonic pattern ($n = 20$) of *E. pubescens* were transplanted to plastic bags 30 x 13 cm (height x diameter, i.e. around 4000 cm³) filled with red oxisoil common in the Cerrado region. Each bag received a single seed. The samples were kept in a greenhouse with 50% shade and moistened, if necessary. After nine months, the seedlings that survived were harvested for measurements and subdivided in function of the number of emerged seedlings. Seedlings were divided in four embryonic classes, mono (seedlings originated from a monoembryonic seed), singlet (a single seedling originated from a polyembryonic seed); doublet (two seedlings originated from a polyembryonic seed), and triplet (three seedlings originated from a polyembryonic seed).

For each collected seedling, we recorded the number of leaves, height (from the soil to the highest leaf apex), stem height (from soil to the tip of the stem), shoot height (from soil to the first leaf petiole), stem diameter (at soil level), maximum root length, and maximum root diameter. Dry matter was measured separately for the root and shoot of seedlings dried to constant weight in paper bags at 70°C. Dry matter was used to calculate the ratio between the root and shoot mass (root:shoot ratio), and also to the relation between shoot mass and total seedling mass (shoot:seedling ratio). These ratios were used to evaluate seedling resource allocation. Weightings were made with a digital scale with 0.0001 g precision. We calculated the biomass allocation at seed individual level, treated here as the sum of biomass of all seedlings produced per seed (as proposed by Blanchard et al., 2010), in order to evaluate possible density-dependent facilitation among seedlings, as a measurement of allee effect.

We used the number of seedlings resulting from each seed as an indicator of competition level. Seeds in the mono pattern were considered as having competition zero, due to the presence of a sole embryo throughout development. For the singlet class (seeds from polyembryonic individuals but which produced a single seedling) we considered competition level 1, for the doublet (twin seedlings seeds) level 2, and for triplets (three seedlings per seed) we used level 3. As mentioned before, the singlet seedlings might have experienced competition inside the mostly polyembryonic seeds of these individuals.

A regression analysis was carried out using the competition level as fixed variable and the seedling biometric data as dependent variable. Regression slope (b) was used as the estimator of competition level on the biometry. We did two analyses, one with the monoembryonic zero level and other without the zero level. The first was used to evaluate the effect of polyembryony and the second to evaluate the effect of the number of seedlings per seed in polyembryonic seeds.

Seedling general growth process—In order to evaluate initial seedling growth process, we measured seedlings from the seedling biometry experiment. We measured 17 seedlings for *E. pubescens* from monoembryonic seeds (from Cristalina population) and 43 seedlings from polyembryonic seeds. We also measured 12 seedlings of *E. gracilipes*, cultivated under the same conditions as *E. pubescens*. We measured seedling height (from soil to tip of the last leaf) periodically over ca. 70 days. Measurements were plotted as a function of emergence time of each seedling.

Statistical analysis—Data from the experiments were submitted to the Shapiro-Wilk (normality of ANOVA residuals) and Levene (homogeneity between variances) tests. All measurements that showed normal distribution and homogeneous variances, with or without transformation, were analyzed with ANOVA and Tukey test for pairwise comparisons. Data

departing from normality and/or with heterocedasty were analyzed with Kruskal-Wallis and Dunn test for pairwise comparisons. The values of MGT were transformed with square root, the ZG with $\ln(x)$, and the values of dry mass of seedling with square root only for statistical analyses.

Emergence percentage were compared between samples using Student's *t*-test for proportions (Snedecor and Cochran, 1989) and MET was compared using Student's *t*-test for heterogeneous variance (Zar, 1984). The analyses of emergence experiment were executed using methods for small samples described in detail in Carvalho et al., (2005). The CV_{ET} was compared using *F* test for coefficients of variation (Sokal and Braumann, 1980) and the ZE was compared using Student's *t*-test for proportions (Snedecor and Cochran, 1989). Correlation significance was tested using Student's *t*-test. The seedling general growth process and the level of competition adjustment to linear regression model were tested using ANOVA (Zar, 1984).

RESULTS

Germination and seedling emergence—In general, germination was over 90%, and similar for both *E. gracilipes* and *E. pubescens* monoembryonic pattern (Table 1). *E. pubescens* polyembryonic pattern presented significantly lower germinability (80%) when compared with the two other groups. Mean germination time (MGT) was different between species, with *E. gracilipes* presenting a relatively slower germination process when compared with both monoembryonic and polyembryonic *E. pubescens* patterns. Higher CV_{GT} , TFGS, and TLGS and lower ZE in *E. gracilipes* indicated that germination was spread over a longer period. Despite similar MGT, the *E. pubescens* polyembryonic seeds showed a higher CV_{GT} , which indicates more irregular germination when compared with monoembryonic seeds.

TABLE 1. Germination measurements of seeds of two *Eriotheca* species (Malvaceae) from individuals with or without polyembryony.

Germination measurements	Species and embryonic pattern (mean \pm SE) ^b			Statistics ^a
	<i>E. gracilipes</i>	<i>E. pubescens</i>	<i>E. pubescens</i>	
	Monoembryonic	Monoembryonic	Polyembryonic	
G (%)	96.00 \pm 2.83 a	98.00 \pm 2.00 a	80.00 \pm 5.16 b	$F = 7.55^*$
TFGS (day)	7.75 \pm 0.48 a	5.25 \pm 0.25 ab	4.00 \pm 0.00 b	$H = 10.39^{**}$
MGT (day)	31.50 \pm 4.17 b	11.87 \pm 0.71 a	12.11 \pm 2.45 a	$F = 17.43^{**}$
TLGS (day)	62.50 \pm 9.14 a	28.00 \pm 4.38 b	35.00 \pm 7.47 ab	$F = 6.29^*$
CV_{GT} (%)	49.21 \pm 6.26 a	52.66 \pm 5.42 a	75.38 \pm 6.82 b	$F = 5.27^*$
ZG	0.03 \pm 0.01 b	0.06 \pm 0.01 a	0.08 \pm 0.03 a	$F = 4.32^*(\dagger)$

Notes: TFGS, Time for first germinated seed, TLGS, time for last germinated seed; G, germinability; MGT, mean germination time; CV_{GT} , coefficient of variation of germination time; ZG, synchronization index of germination.

^a Statistics: F : F of Snedecor from ANOVA; H : H from Kruskal-Wallis

^bMeans followed by different letters in each line are different based on the Tukey or Duncan (†) test for ANOVA or Dunn test for Kruskal-Wallis (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ns $P > 0.05$).

Seedling emergence of *E. pubescens* was also high (over 70%), and was not significantly different between monoembryonic and polyembryonic patterns (Table 2). But the mean emergence time (MET) was lower for the monoembryonic pattern without differences in CV_{ET} (Table 2). There was no correlation between the number of seedlings emerging for each seed and time of emergence of first seedling ($r = -0.2421$, $n = 175$, $P = 0.5801$).

Seedling biometry—Seedlings in both species and patterns were of the Phanero-Hypogeal-Reserve-PHR type (*sensu* Miquel, 1987) with cotyledons remaining below soil during emergence. There were marked differences in emergence time and size between seedlings in a seed.

In *E. pubescens*, leaf number, height of stem, stem and root diameter as well as the dry matter of root system and of the whole seedling showed differences between the embryonic classes evaluated. Monoembryonic seedlings (mono class) presented mostly the highest measures and increasing number of embryos affected final seedling biometry (Table 3).

This effect of polyembryony on seedling biometry was clearly shown by the regression analysis, with significant adjustment and negative slopes for all these measurements except root length. For some of the measurements, regression showed significant adjustment and slope even when the analysis was carried out without the zero competition level (mono class), indicating an effect of seedling competition *per se* (Table 4). It was possible to estimate, based on the regression analysis, a loss of 46.59 mg (ca 30%) of seedling dry matter as an effect of polyembryony and a further loss of 41.67 mg (29%) for each additional seedling emerging per seed (Table 4).

However, polyembryony had no effect on the dry matter ratios between. Thus, the root:shoot ratio and the shoot:seedling ratio seem to be a conservative characteristic of the species, unaffected by polyembryony and seedling competition level (Tables 3 and 4).

The embryonic class did not affect the biomass allocation, at individual seed level, for the shoot dry mass (mean = 409.32 ± 40.41 mg•seed⁻¹ SE; $F_{3,24} = 0.98$; $P = 0.5791$), root dry mass (mean = 1003.63 ± 82.72 mg•seed⁻¹ SE; $F_{3,24} = 0.42$; $P = 0.7430$) and total dry mass (mean = 1412.95 ± 120.51 mg•seed⁻¹ SE; $F_{3,24} = 0.59$; $P = 0.6294$),

TABLE 2. Emergence measurements of *Eriotheca pubescens* seedlings (Malvaceae) from individuals with or without polyembryony.

Emergence measurements	Embryonic pattern		Statistics
	Monoembryonic	Polyembryonic	
E (%)	73.33	70.77	$t = 0.36$, df = 61, $P = 0.7219$
TFES (day)	13	13	
MET (day)	16.24	18.91	$t = 5.72$, df = 75, $P < 0.0001$
TLES (day)	23	32	
CV _{ET} (%)	21.73	16.49	$F = 0.99$, df = 32, $P = 0.5370$
ZE	0.12	0.11	$t = 0.20$, df = 634, $P = 0.8410$

Notes: TFES, Time for first emerged seedling; TLES, time for last emerged seedling; E, emergence; MET, mean emergence time; CV_{ET}, coefficient of variation of emergence time; ZE, synchronization index of emergence.

TABLE 3. Biometry and allocation of dry matter of seedlings of *Eriotheca pubescens* (Malvaceae), from monoembryonic or polyembryonic seed patterns, cultivated in greenhouse with reduction of 50% of light, in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil, for nine months.

Seedling trait	Seedling class pattern (mean \pm SE) ^a				Statistics ^b
	Mono (n = 13)	Singlet (n = 5)	Doublet (n = 16)	Triplet (n = 6)	
Number of leaves	6.23 \pm 0.44 a	3.00 \pm 0.71 b	3.38 \pm 0.20 b	2.83 \pm 0.56 b	$F = 17.48$ *
Seedling height (mm)	81.70 \pm 8.12 a	69.44 \pm 7.77 a	62.21 \pm 5.07 a	52.42 \pm 6.36 a	$F = 2.83$ ns
Sprout height (mm)	41.27 \pm 5.57 a	25.12 \pm 2.19 a	27.51 \pm 2.12 a	21.65 \pm 2.23 b	$H = 8.64$ *
Stem diameter (mm)	3.43 \pm 0.25 a	2.52 \pm 0.23 ab	2.39 \pm 0.17 b	2.08 \pm 0.11 b	$F = 7.50$ *
Root length (mm)	104.07 \pm 3.98 a	101.78 \pm 16.20 a	102.46 \pm 7.43 a	110.42 \pm 3.74 a	$H = 1.09$ ns
Root diameter (mm)	8.88 \pm 1.44 a	8.54 \pm 0.80 ab	7.68 \pm 0.48 ab	6.53 \pm 0.60 b	$F = 3.03$ *
Stem length (mm)	26.72 \pm 2.75 a	23.08 \pm 2.80 a	25.03 \pm 0.94 a	18.20 \pm 2.27 a	$H = 7.76$ ns
Shoot dry mass (mg)	47.04 \pm 7.61 a	27.98 \pm 6.50 ab	19.74 \pm 2.59 b	13.14 \pm 4.20 b	$H = 13.96$ *
Root dry mass (mg)	108.68 \pm 14.90 a	82.88 \pm 19.72 ab	48.30 \pm 6.33 b	35.03 \pm 12.06 b	$F = 7.53$ *
Seedling dry mass (mg)	155.72 \pm 22.05 a	110.87 \pm 26.09 a	68.03 \pm 8.81 b	48.16 \pm 16.19 b	$H = 7.37$ **
Root shoot mass ratio	2.54 \pm 0.24 a	2.82 \pm 0.30 a	2.36 \pm 0.18 a	2.66 \pm 0.27 a	$F = 0.58$ ns
Shoot seedling mass ratio	0.29 \pm 0.01 a	0.27 \pm 0.02 a	0.32 \pm 0.04 a	0.28 \pm 0.02 a	$H = 1.63$ ns

^aSeedlings class pattern: mono (one seedling originated from a monoembryonic seed), singlet (one seedling originated from a polyembryonic seed), doublet (two seedlings originated from a polyembryonic seed), triplet (three seedlings originated from a polyembryonic seed).

^bStatistics: F : F of Snedecor from ANOVA; H : H from Kruskal-Wallis; Means followed by different letters in each line are different based on the Tukey test for ANOVA or Dunn test for Kruskal-Wallis (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ns $P > 0.05$).

TABLE 4. Analysis of linear regression of the biometry of *Eriotheca pubescens* seedlings (Malvaceae) with different competition levels among seedlings. The level of competition is the number of seedlings produced per seed in polyembryonic seeds and level zero of competition is the absence of competition among seedlings produced from strictly monoembryonic individuals.

Seedling trait	Level of competition							
	With level zero				Without level zero			
	R^2 (%)	a	b	F	R^2 (%)	a	b	F
Number of leaves	67.65	5.39	-1.00	26.48 **	9.02	3.24	-0.08	0.08 ns
Seedling height	99.74	81.11	-9.73	7.66 **	99.25	78.38	-8.51	2.84 ns
Sprout height	77.75	37.77	-5.79	8.16 **	34.64	28.23	-1.74	0.76 ns
Stem diameter	87.16	3.24	-0.42	14.56 **	94.40	2.76	-0.22	1.93 ns
Root length	41.45	101.82	1.94	0.27 ns	80.89	96.25	4.31	0.33 ns
Root diameter	94.95	9.11	-0.81	9.58 **	99.37	9.59	-1.00	4.27 *
Stem length	70.10	26.92	-2.39	5.05 *	48.09	26.98	-2.44	3.83 ns
Shoot dry mass	92.51	43.29	-10.95	15.01 **	99.55	35.05	-7.33	3.83 *
Root dry mass	97.19	104.91	-25.04	16.54 **	93.80	103.43	-24.00	8.92 **
Seedling dry mass	98.61	156.62	46.59	23.13 **	97.96	145.14	-41.67	9.29 **
Root shoot mass ratio	0.69	2.55	0.009	0.006 ns	10.90	2.77	-0.08	0.17 ns
Shoot seedling mass ratio	0.01	0.29	0.0001	0.00 ns	4.18	0.27	0.006	0.04 ns

Notes: R^2 , coefficient of determination; a , intercept; b , slope; F , F of Snedecor from ANOVA;

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; ns $P > 0.05$

Seedling general growth process—In contrast with the observed differences of seedling biometry, the growth process up to 70 days after emergence was not markedly different between species or embryonic patterns (Figure 1). Seedling growth processes were well adjusted to the linear regression for *E. gracilipes* ($F = 101.56$; $P < 0.0001$; $df = 44$; $R^2 = 0.6977$), *E. pubescens*, monoembryonic pattern ($F = 92.60$; $P < 0.0001$; $df = 69$; $R^2 = 0.573$) and *E. pubescens*, polyembryonic pattern ($F = 128.79$; $P < 0.0001$; $df = 116$; $R^2 = 0.5261$).

Pairwise tests for monoembryonic vs. polyembryonic patterns of *E. pubescens* seeds showed no differences between regression slopes ($t = 1.21$, $df = 185$, $P = 0.2290$) but significant differences between intercepts ($t = 2.28$, $df = 186$, $P = 0.0285$). Similar tests showed no differences between *E. pubescens* polyembryonic pattern and *E. gracilipes* seedlings either between slopes ($t = 1.36$, $df = 160$, $P = 0.1773$) or between intercepts ($t = 0.71$, $df = 161$, $P = 0.4763$). Monoembryonic pattern of *E. pubescens* did not show any differences when compared with *E. gracilipes* either between slopes ($t = 0.27$, $df = 113$, $P = 0.7889$) or intercepts ($t = 1.05$, $df = 114$, $P = 0.2968$). These results mean that, although seedlings presented initial differences in size (intercept), the general growth process (slope) was basically the same for polyembryonic and monoembryonic seeds of *E. pubescens*, and for strictly monoembryonic seeds of *E. gracilipes*.

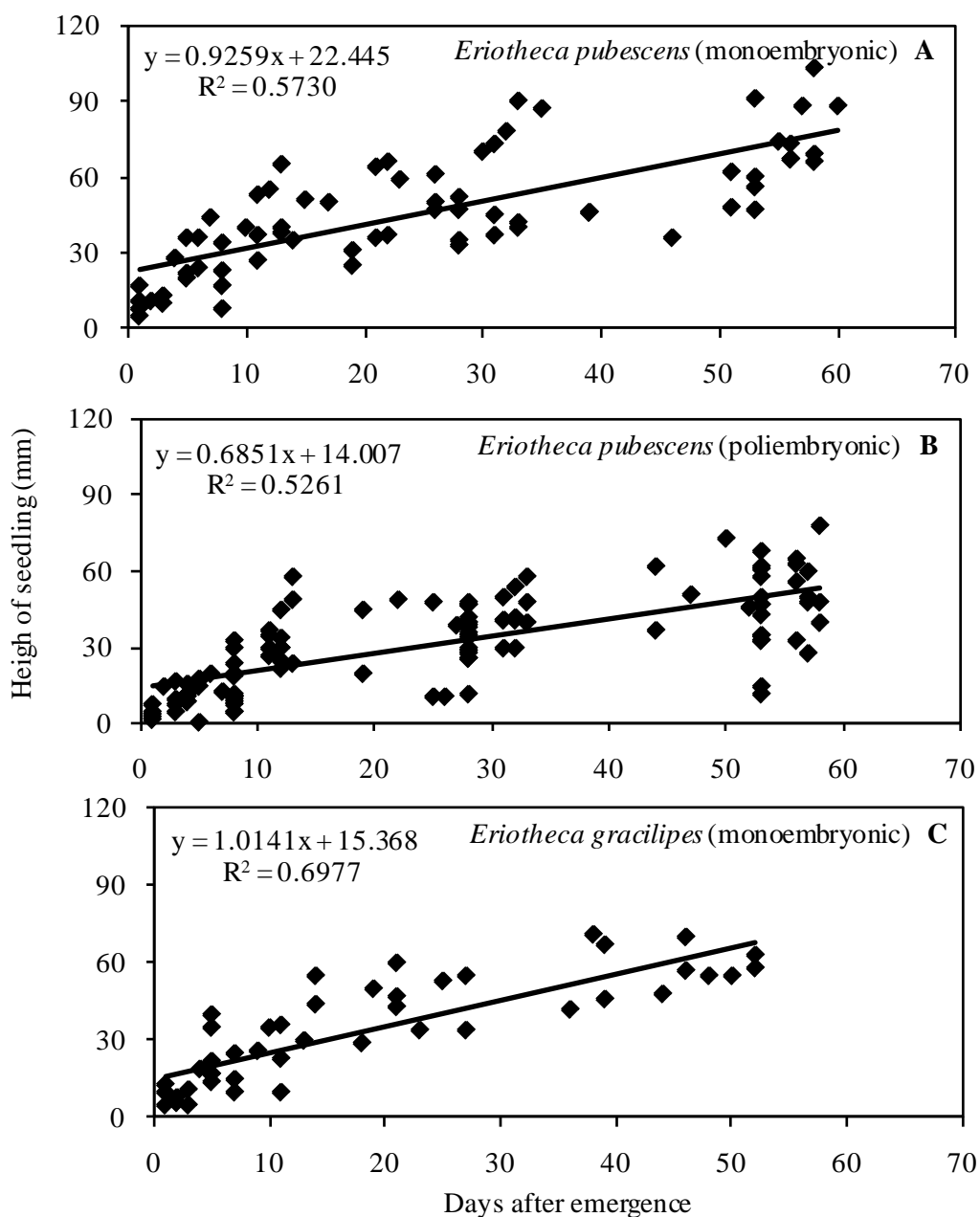


Fig. 1. Initial growth of seedlings originated from monoembryonic and polyembryonic embryonic patterns of two species of *Eriotheca* (Malvaceae), cultivated in greenhouse with reduction of 50% of light, in Uberlândia - Minas Gerais, Brazil. (A) *E. pubescens*, seedlings originated from monoembryonic pattern. (B) *E. pubescens*, seedlings originated from polyembryonic pattern. (C) *E. gracilipes*, seedlings originated from monoembryonic pattern.

DISCUSSION

Seed germination and seedling emergence—Polyembryony affected seed germination, but not seedling emergence in *E. pubescens*. Nevertheless the lower germinability results for the polyembryonic seeds of *E. pubescens* were, nevertheless, relatively high when compared with germinability of other species of Cerrado (Salomão et al., 2003). Other studies with polyembryonic species, as in *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns, Malvaceae (Scalon et al., 2003) and *Garcinia* spp. (Ha et al., 1988) have shown that polyembryony does not seem to be a constraint for germinability and emergence. Irrespective of embryony patterns, G and MGT observed for the studied species are similar or even higher than those obtained for other sexual taxa in the family (Souza and Válio, 2001; Scalon et al., 2003; Barbosa et al., 2004).

Germinability differences between monoembryonic and polyembryonic seed patterns contrast with basically similar seedling emergence. Irrespective of embryony pattern, emergence was also higher than the data recorded for other species in the family with apparently sexual and strictly monoembryonic seeds (Sousa-Silva et al., 2001; Zamith and Scarano, 2004). No effect of embryonic class was found either in the time for the first seedling emerged in *Vincetoxicum rossicum* (Kleo.) Barb. (Apocynaceae), neither for the first or second radicle protrusion (Blanchard et al., 2010).

Direct comparisons between apomictic and polyembryonic seeds with sexual and monoembryonic ones in the same species, as showed here for *E. pubescens*, is, as far as we know, nonexistent in the literature. Comparisons between sexual and apomictic seeds, e.g. in *Antennaria parlinii* Fernald (Asteraceae), showed differences in mass, dispersability, germination and survival ability (Michaels and Bazzaz, 1986; O'Connell and Eckert, 2001), but these were always monoembryonic seeds. Polyembryony affected weakly germination and emergence in *V. rossicum* (Ladd and Cappuccino, 2005; Hotchkiss et al., 2008), but in this

case, comparison with strictly monoembryonic seeds was not possible since populations were always apomictic and polyembryonic.

Higher CV_{GT} and lower G observed in polyembryonic seeds of *E. pubescens* may reflect differences in imbibition and ability to break the testa in polyembryonic seeds. Higher CV_t may function as a relative dormancy (Carvalho et al. 2005), considered as the spreading of germination over time (sensu Bewley and Black, 1943) and a mechanism to reduce competition between siblings. The values of CV_t were higher even when compared with other Cerrado species with dormancy, as *Clidemia hirta* (L.) D. Don (Melastomataceae) and *Copaifera langsdorffii* Desf., Caesalpinioideae (Mendes-Rodrigues et al., 2008b; Pereira et al., 2009). Comparisons between *Inga* species show similar results, with seedlings of monoembryonic *Inga sessilis* (Vell.) Mart. (Mimosoideae) emerging with higher percentages, quicker and with higher synchrony than that of polyembryonic *I. laurina* (Sw.) Willd (Mendes-Rodrigues et al., 2008a).

Seedling biometry—The occurrence of extranumerary embryos and seedlings seem to result in competition for resources between seedlings, evinced by the decrease in seedling mass and other seedling biometric features (Mendes-Rodrigues et al., 2005). Even in the seeds which formed a single seedling but were originated from polyembryonic individuals (singlet class), there was a trend toward the reduction on biometric data when compared with the truly monoembryonic seedlings (mono class). Although some of the measured features did not show significant differences between these classes, most of them fit a linear regression confirming a trend of reduction of biometric seedling data associated with increase in polyembryony, as observed in other polyembryonic plants under similar experiments (Hotchkiss et al., 2008; Blanchard et al., 2010). Root length was the only feature which showed an opposite trend, tending to be larger in polyembryonic seedlings, although differences were not significant. Increase in root length may be a response to competition,

leading to growth to soil depths where root density would be smaller (Kroon and Hutchings, 1995). Competition models explain differential root growth as differential allocation to roots in detriment of shoots and reproduction (Gersani et al., 2001). But no such differences in root to shoot ratios were observed between sexual and apomictic individuals of *Taraxacum officinale* F. Weber ex Wiggers (Asteraceae) exposed to competition or growing alone (Kovel and Jong, 2001).

The root:shoot allocation ratio seems to be a conservative feature among Cerrado seedlings, since root thickening and the ability to resprout from roots after drought are features which increase survivorship in a region with marked seasonal rainfall (Franco, 2002). Such seedling features may be also adaptive to the frequent fires in Cerrado, allowing seedlings to store resources in root organs and resprout after fire or at the end of the dry season (Moreira and Klink, 2000; Hoffmann and Franco, 2003). This adaptive value of root-biased allocation would explain conservative root:shoot ratio observed for all *Eriotheca* seedlings.

The results of *E. pubescens* seedling competition experiments were similar to other studies of intraspecific competition where the increase in the number of seedlings per experimental unity (density per vase, m², cm², etc) produced a decrease in seedling biometrics (Firbank and Watkinson, 1985; Lentz, 1999; Kovel and Jong, 2001; Florentine and Fox, 2003; Osunkoya et al., 2005). The difference in *E. pubescens* is that density was a result of polyembryony and competition involved mostly clonal seedlings.

Studies comparing growth of apomictic *versus* sexual seedlings have produced contrasting results. In *Citrus*, seedlings of zygotic origin presented smaller height than those of nucellar origin, although the study did not focus on the effect of polyembryony on seedling development (Xiang and Roose, 1988). In *A. parlinii*, sexual seedlings showed higher biomass production than apomictic counterparts during initial stages of development (Michaels and Bazzaz, 1986), which resulted in differential survivorship of sexuals.

Comparison between sexual and asexual individuals of *T. officinale* showed no differences in competition ability and both types of individuals presented the same mass at harvest (Kovel and Jong, 2001), but in these latter two cases, seeds, either apomictic or sexual, were always monoembryonic.

The only species with more directly comparable studies for the impact of polyembryony on seedling survival and growth is *V. rossicum*. In this species, seedling survival was higher in polyembryonic seeds, but advantage varied with light conditions (Ladd and Cappuccino, 2005). When cultivated in similar growing conditions, the number of embryos per seed of *V. rossicum* had only transient effect on seedling growth and did not affect height, above ground biomass, or survival two or three years after emergence (Hotchkiss et al., 2008). In this latter study, the main hypothesized advantage of polyembryonic seeds is a form of “bet hedging”, so that if a seedling from a polyembryonic seed is lost to hazards such as herbivory or drought, seedlings arising from the other embryos could potentially replace it. Effectively, in *V. rossicum* the whole cohort of seedlings from a given polyembryonic seed (doublets and triplets) showed higher survival rates than singleton (singlet) seedlings three years after emergence, for some treatments (Ladd and Cappuccino, 2005).

The polyembryonic species, as *V. rossicum*, tend to show an increase in embryo and seedling mass per seed, treated here as seed individual, and a decrease in individual embryo or seedling mass, as a function of embryonic class (Ladd and Cappuccino, 2005; Blanchard et al., 2010). *E. pubescens* has the same seedling mass per individual seed level, independent of the embryonic class. Probably constrains of wind seed dispersal limit seed individual mass in *E. pubescens*. The higher seed individual mass in seeds with more than one seedlings could be favoured in invasive species as *V. rossicum* that experience more competition and need to show higher growth rates (Cappuccino et al., 2002).

Seedling general growth process—Polyembryony did not seem to affect the general growth process for the *Eriotheca* seedlings studied here, although embryo number patterns did result in significantly different seedling mass and other biometric features at the end of the experiment. Significant differences in the intercept of the regression analyses indicate that the initial size of the seedling was the most important parameter to explain final seedling development. Seedling initial size is the result of embryo size and resource availability, and embryo size is clearly affected by polyembryony in *E. pubescens* (Mendes-Rodrigues et al., 2005). Thus, polyembryony did not affect the seedling growth process but did affect seedling initial size, and consequently, did have an impact on final seedling biomass and maybe on its survival ability. Hence, seedling final size is a result mostly of embryo competition during in-seed development and is less affected by seedling competition, at least during the initial stages studied here.

Conclusions—The results indicated that polyembryony did affect germination process, had a marked effect on the post-seminal development and probably reduced the survival ability of *E. pubescens* seedlings arising from polyembryonic seeds. This initial advantage of monoembryonic seeds over the polyembryonic ones does not seem to be translated into higher reproductive success, since monoembryonic individuals are restricted to a limited population and polyembryony is the prevalent condition in this species (Mendes-Rodrigues et al., 2005). It is possible that the initial handicap of polyembryonic seeds is compensated by gains in survival ability or growth after the stages studied here. As suggested for *V. rossicum* (Ladd and Cappuccino, 2005; Hotchkiss et al., 2008), occurrence of extra seedlings may enhance *per* seed individual survival chances in the Cerrado conditions of drought and frequent fire. This bet hedging strategy favours persistence of polyembryonic/apomictic populations and, as in temperate environments (Horandl and Paun,

2007), may represent an important reproductive alternative for Neotropical savanna trees (Allem, 2004).

REFERENCES

- ALLEM, A. C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long-term evolutionary prospects in the Angiosperms. *Botanical Review* 69: 225-251.
- APG. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.
- BAKER, H. G. 1960. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). *American Journal of Botany* 47: 296-302.
- BARBOSA, A. P., P. D. T. B. SAMPAIO, M. A. A. CAMPOS, V. P. VARELA, C. D. Q. B. GONÇALVES, AND S. IIDA. 2004. Alternative technology for breaking dormancy of balsa wood (*Ochroma lagopus* Sw., Bombacaceae) seeds. *Acta Amazônica* 34: 107-110 (in portuguese with English abstract).
- BATYGINA, T. B., AND G. Y. VINOGRADOVA. 2007. Phenomenon of polyembryony: genetic heterogeneity of seeds. *Russian Journal of Developmental Biology* 38: 126-151.
- BEWLEY, J. D., AND M. BLACK. 1943. Seeds: Physiology of development and germination. Plenum Press, New York, New York, USA.
- BLANCHARD, M. L., J. N. BARNEY, K. M. AVERILL, C. L. MOHLER, AND A. DITOMMASO. 2010. Does polyembryony confer a competitive advantage to the invasive perennial vine *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae)? *American Journal of Botany* 97: 251-260.
- CAPPUCCINO, N., R. MACKAY, AND C. EISNER. 2002. Spread of the invasive alien vine *Vincetoxicum rossicum*: tradeoffs between seed dispersability and seed quality. *American Midland Naturalistic* 148: 263-270.

- CARMAN, J. G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society* 61: 51-94.
- CARVALHO, M. P., D. G. de SANTANA, AND M. A. RANAL. 2005. *Anacardium humile* A. St.-Hil. (Anacardiaceae) seedling emergence evaluated by means of small samples. *Revista Brasileira de Botânica* 28: 627-633 (in portuguese with English abstract).
- CHEPLICK, G. P. 1992. Sibling competition in plants. *Journal of Ecology* 80: 567-575.
- CHEPLICK, G. P., AND K. H. KANE. 2004. Genetic relatedness and competition in *Triplasis purpurea* (Poaceae): Resource partitioning or kin selection? *International Journal of Plant Sciences* 165: 623-630.
- DUNCAN, E. J. 1970. Ovule and embryo ontogenesis in *Bombacopsis glabra*. (Pasq.) A. Robyns. *Annals of Botany* 34: 677-683.
- FIRBANK, L. G., AND A. R. WATKINSON. 1985. On the analysis of competition within two-species mixtures of plants. *Journal of Applied Ecology* 22: 503-517.
- FLORENTINE, S. K., AND J. E. D. FOX. 2003. Competition between *Eucalyptus victrix* seedlings and grass species. *Ecological Research* 18: 25-39.
- FRANCO, A. C. 2002. Ecophysiology of woody plants. In P. S. Oliveira AND R. J. Marquis [eds.], *The Cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a Neotropical Savanna*, 178-197. Columbia University Press, New York, New York, USA.
- GERSANI, M., J. S. BROWN, E. E. O'BRIEN, G. M. MAINA, AND Z. ABRAMSKY. 2001. Tragedy of the commons as a result of root competition. *Journal of Ecology* 89: 660-669.
- GIBBS, P. E., AND M. BIANCHI. 1993. Post pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late acting self-incompatibility. *Botanica Acta* 106: 64-71.
- GRIBEL, R., P. E. GIBBS, AND A. L. QUEIRÓZ. 1999. Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba petandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. *Journal of Tropical*

- Ecology* 15: 247-263.
- GRIBEL, R., AND P. E. GIBBS. 2002. High outbreeding as a consequence of selfed ovule mortality and single vector bat pollination in the Amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). *International Journal of Plant Sciences* 163: 1035-1043.
- HA, C. O., V. E. SANDS, E. SOEPADMO, AND K. JONG. 1988. Reproductive patterns of selected understorey trees in the Malaysian rain forest - the apomictic species. *Botanical Journal of the Linnean Society* 97: 317-331.
- HOFFMANN, W. A., AND A. C. FRANCO. 2003. Comparative growth analysis of tropical forest and savanna woody plants using phylogenetically independent contrasts. *Journal of Ecology* 91: 475-484.
- HÖRANDL, E., AND O. PAUN. 2007. Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implication for evolutionary potentials. In E. Hörandl, U. Grossniklaus, P. J. van Dijk, and T. F. Sharbel [eds.], *Apomixis: Evolution, mechanisms and perspectives*, 169-194. ARG-Gantner Verlag, Ruggell, Liechtenstein.
- HOTCHKISS, E. E., A. DITOMMASO, D. C. BRAINARD, AND C. L. MOHLER. 2008. Survival and performance of the invasive vine *Vincentoxicum rossicum* (Apocynaceae) from seeds of different embryo number under two light environments. *American Journal of Botany* 95: 447-453.
- KOVEL, C. G. F. D., AND G. D. JONG. 2001. The effect of intra-specific competition on seedlings of sexual and apomictic *Taraxacum officinale*. *Oikos* 95: 25-30.
- KROON, H. D., AND M. J. HUTCHINGS. 1995. Morphological plasticity in clonal plants: the foraging concept reconsidered. *Journal of Ecology* 83: 143-152.
- LABOURIAU, L. G. 1970. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm - I. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 42: 235-262.
- LABOURIAU, L. G. 1983. A Germinação das Sementes. (Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Série de Biologia, Monografia 24)

Organização dos Estados Americanos, Washington, Washington, USA.

- LADD, D., AND N. CAPPUCINO. 2005. A field study of seed dispersal and seedling performance in the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum*. *Canadian Journal of Botany* 83: 1181-1188.
- LENTZ, K. A. 1999. Effects of intraspecific competition and nutrient supply on the endangered northeastern bulrush, *Scirpus ancistrochaetus* Schuyler (Cyperaceae). *American Midland Naturalistic* 142: 47-54.
- MARTINS, R. L., AND P. E. OLIVEIRA. 2003. RAPD evidence for apomixis and clonal populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). *Plant Biology* 5: 338-340.
- MENDES-RODRIGUES, C., R. CARMO-OLIVEIRA, S. TALAVERA, M. ARISTA, P. L. ORTIZ, AND P. E. OLIVEIRA. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). *Plant Biology* 7: 433-450.
- MENDES-RODRIGUES, C., M. RANAL, AND P. E. OLIVEIRA. 2008. Could seed dormancy and polyembryony explain the success of *Clidemia hirta* (L.) D. Don. (Melastomataceae)? In Faleiro F. G. AND A. L. de Farias Neto [eds.] IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais., Brasília, Brasília, Brazil. [online article]. Website <http://www.cpac.embrapa.br/download/428/t> [accessed 29 june 2010].
- MENDES-RODRIGUES, C., M. RANAL, AND D. G. de SANTANA. 2008. Seedling emergence and polyembryony in two species of *Inga* (Mimosaceae). In Faleiro F. G. AND A. L. de Farias Neto [eds.] IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais., Brasília, Brasília, Brazil. [online article]. Website <http://www.cpac.embrapa.br/download/429/t> [accessed 29 june 2010].
- MICHAELS, H. J., AND F. A. BAZZAZ. 1986. Resource allocation and demography of sexual and apomitic *Antennaria parlini*. *Ecology* 67: 24-36.
- MIQUEL, S. 1987. Morphologie fonctionnelle de plantules d'espèces forestières du Gabon. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle* 9: 101-121.

- MOREIRA, A. G., AND C. A. KLINK. 2000. Biomass allocation and growth of tree seedlings from two contrasting Brazilian Savannas. *Ecotropicos* 13: 43-51.
- O'CONNEL, L. M., AND C. G. ECKERT. 2001. Differentiation in reproductive strategy between sexual and asexual populations of *Antennaria parlinii* (Asteraceae). *Evolutionary Ecology Research* 3: 211-330.
- OLIVEIRA, P. E., P. E. GIBBS, A. A. BARBOSA, AND S. TALAVERA. 1992. Constrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. *Plant Systematics and Evolution* 179: 207-219.
- OSUNKOYA, O. O., F. E. OTHMAN, AND R. S. KAHAR. 2005. Growth and competition between seedlings of an invasive plantation tree, *Acacia mangium*, and those of a native Borneo heath-forest species, *Melastoma beccarianum*. *Ecological Research* 20: 205-214.
- PEREIRA, R. D. S., D. G. de SANTANA, AND M. A. RANAL. 2009. Seedling emergence from newly-collected and storage seeds of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpinioideae), Triângulo Mineiro, Brasil. *Revista Árvore* 33: 643-652 (in portuguese with English abstract).
- PORCHER, E., AND R. LANDE. 2005. Reproductive compensation in the evolution of plant mating systems. *New Phytologist* 166: 673-684.
- PRIMACK, R. B. 1980. Variation in the phenology of natural populations of montane shrubs in New Zealand. *Journal of Ecology* 68: 849-862.
- RANAL, M. A., AND D. G. de SANTANA. 2006. How and why to measure the germination process? *Revista Brasileira de Botânica* 29: 1-11.
- RANAL, M. A., D. G. de SANTANA, W. R. FERREIRA, AND C. MENDES-RODRIGUES. 2009. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. *Revista Brasileira de Botânica* 32: 849-855.
- RAUTIAINEN, P., K. KOIVULA, AND M. HYVARINEN. 2004. The effect of within-genet and between-genet competition on sexual reproduction and vegetative spread in *Potentilla*

- anserina* ssp. *egedii*. *Journal of Ecology* 92: 505-511.
- ROBYNS, A. 1959. Note préliminaire sur la polyembryonie dans *Bombax kimuenzae* de Wild. et. Th. Dur. *Bulletin du Jardin Botanique de L'Etat a Bruxelles* 29: 23-26.
- ROBYNS, A. 1963. Essai de monographie du genre *Bombax* s. l. (Bombacaceae). *Bulletin du Jardin Botanique de l'État à Bruxelles* 33: 1-315.
- SALOMÃO, A. N., AND A. C. ALLEM. 2001. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. *Acta Botanica Brasilica* 15: 369-378.
- SALOMÃO, A. N., J. C. SOUSA-SILVA, A. C. DAVIDE, S. GONZÁLES, R. A. A. TORRES, M. M. V. S. WETZEL, F. FIRETTI, AND L. S. CALDAS. 2003. Germinação de sementes e produção de mudas de plantas do Cerrado, 1st ed. Rede de Sementes do Cerrado, Brasília, Brasília, Brazil.
- SCALON, S. D. P. Q., R. M. MUSSURY, M. R. RIGONI, AND H. S. FILHO. 2003. Initial growth of *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns seedlings under shading conditions. *Revista Árvore* 27: 753-758 (in Portuguese with English abstract).
- SMITH, L. L., A. DITOMMASO, J. LEHMANN, AND S. GREIPSSON. 2006. Growth and reproductive potential of the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum* in Northern New York State. *Canadian Journal of Botany* 84: 1771-1780.
- SNEDECOR, G. W., AND W. G. COCHRAN. 1967. Statistical methods, 6th ed. Iowa State University, Ames, Iowa, Iowa, USA.
- SOKAL, R. R., AND C. A. BRAUMANN. 1980. Significance tests for coefficients of variation and variability profiles. *Systematic Zoology* 29: 50-66.
- SOKAL, R. R., AND F. J. ROHLF. 1981. Biometry, 2nd ed. W. H. Freeman and Company, New York, New York, USA.
- SOUZA, R. P. D., AND I. F. M. VÁLIO. 2001. Seed size, seed germination, and seedling Survival of Brazilian tropical tree species differing in successional status. *Biotropica* 33: 447-457.

SOUZA-SILVA, J. C., J. F. RIBEIRO, C. E. L. D. FONSECA, AND N. B. ANTUNES. 2001.

Germinação de sementes e emergência de plântulas de espécies arbóreas e arbustivas que ocorrem em Matas de Galeria. *In* J. F. Ribeiro, C. E. L. Fonseca, J. C. Souza-Silva [eds.], *Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria*, 379-422. Embrapa Cerrados, Brasília, Brasília, Brazil.

TIELBÖRGER, K., AND R. PRASSE. 2009. Do seeds sense each other? Testing for density-dependent germination in desert perennial plants. *Oikos* 118: 792-800.

UMA SHAANKER, R., K. N. GANESHAIAH, AND K. S. BAWA. 1988. Parent offspring conflict, sibling rivalry and brood size patterns in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 177-205.

UMA SHAANKER, R., AND K. N. GANESHAIAH. 1997. Conflict between parent and offspring in plants: predictions, processes and evolutionary consequences. *Current Science* 72: 932-939.

XIANG, C., AND M. L. ROOSE. 1988. Frequency and characteristics of nucellar and zygotic seedlings in 12 *Citrus* rootstocks. *Scientia Horticulturae* 37: 47-59.

ZAMITH, L. R., AND F. R. SCARANO. 2004. Seedling production of Restinga species of Rio de Janeiro Municipality, RJ, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 18: 161-176 (in Portuguese with English abstract).

ZAR, J. H. 1984. *Biostatistical Analysis*, 2nd ed. Princeton Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA.

Capítulo: 6

Como a poliembriõnia afeta embriões e plântulas de

Handroanthus chrysotrichus (Bignoniaceae)?

Resumo: Embora a poliembriõnia seja amplamente distribuída nas Angiospermas, seus efeitos sobre a biologia de sementes ainda são pouco conhecidos. *Handroanthus chrysotrichus* é uma espécie apomítica e com elevadas taxas de poliembriõnia. O objetivo do trabalho foi caracterizar a poliembriõnia e seu efeito sobre os embriões e plântulas de *Handroanthus chrysotrichus*. Para isto, foram avaliados cinco indivíduos poliembriõnicos da espécie, caracterizando a germinaçaõ de sementes, a emergênciã de plântulas, a freqüência de poliembriõnia, a alocaçaõ de massa para os embriões, o crescimento inicial de plântulas gemelares, e alteramos a densidade (duas ou três plântulas) e o tipo de competiçaõ entre plântulas gemelares. As sementes mostraram germinaçaõ de 97,34% e emergênciã de 90,16%, com média de embriões e plântulas de 2,18 e 1,66, respectivamente. A massa total de embriões por semente não variou em funçaõ do número de embriões por semente, mas a massa individual de cada embrião diminuiu ajustando-se a um modelo potencial. A massa das plântulas também diminuiu com o aumento do número de plântulas por semente, tanto aos 54 dias como aos 124 dias após a sementeira. A mortalidade das sementes diminuiu e a mortalidade das plântulas aumentou com o aumento do número de plântulas por semente. A manipulaçaõ da poliembriõnia mostrou que, independentemente do tipo de competiçaõ, plântulas triplets apresentam crescimento mais acelerado que doublets, e que aos 124 dias plântulas gemelares apresentam menor massa subterrânea e total. Esse resultado foi conseqüência da diminuiçaõ das taxas de crescimento das plântulas em competiçaõ intra-

específica, e um aumento das taxas de crescimento de plântulas menores. A poliembrião foi vantajosa para *Handroanthus chrysotrichus* pelo aumento da chance de pelo menos uma plântula sobreviver por semente. A poliembrião parece aumentar o crescimento de plântulas menores, o que em situações de mortalidade da plântula maior, poderia favorecer o estabelecimento das mesmas.

Palavras chave: poliembrião, plântulas gemelares, competição intra-específica, apomixia, embrião adventícia, savanas neotropicais.

Introdução

A ocorrência de mais de um embrião por semente, fenômeno conhecido como poliembrião (Batygina & Vinogradova 2007), é amplamente distribuída entre as angiospermas (Carman 1997), embora poucos estudos tenham se dedicado à avaliação dos seus efeitos sobre a biologia das espécies. No bioma Cerrado, cerca de 19% das espécies arbóreas são poliembriônicas (Salomão & Allem 2001), embora amostragens mais recentes elevem esse percentual para até 30,30% (Capítulo 2). Nesses estudos sobre o Cerrado, chama a atenção que entre as seis espécies com maior número médio de embriões e frequência de sementes poliembriônicas, três são do gênero *Handroanthus* (*Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos, *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos e *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose (Capítulo 2). O gênero *Handroanthus* foi recentemente segregado do gênero *Tabebuia* e as três espécies apresentam grande similaridade genética entre si (Grose & Olmstead 2007). Embora não seja conhecida a origem da poliembrião em *Handroanthus serratifolius*, nas demais espécies a poliembrião está associada à apomixia esporofítica, com os embriões originados a partir de células da hipóstase (Costa *et al.* 2004, Souza *et al.* 2005, Bittencourt Jr. & Moraes, 2010).

Handroanthus chrysotrichus é poliplóide e autofértil (Piazzano 1998, Costa *et al.* 2004, Bittencourt Jr. & Moraes, 2010). Suas sementes apresentam viabilidade de cerca de 25-87% (Fonseca *et al.* 2005, Oliveira *et al.* 2008, Martins *et al.* 2008, Martins *et al.* 2009, Santos *et al.* 2009), com presença de variabilidade intra-específica na porcentagem de sementes poliembriônicas, na germinabilidade, no tempo médio de germinação e na biometria de plântulas (Santos *et al.* 2009). Embora registrem a poliembriõnia, os estudos não fazem menção aos efeitos da poliembriõnia sobre as sementes e plântulas (Costa *et al.* 2007, Sarzi *et al.* 2008). Nenhuma das populações de *Handroanthus chrysotrichus* avaliadas foi estritamente monoembriônica (Souza *et al.* 2005, Sampaio 2010). Estudos do efeito da poliembriõnia sobre o crescimento das plântulas seriam importantes, uma vez que se tem demonstrado a interferência da presença plântulas irmãs no crescimento final das mesmas (Cheplick 1992, Capítulo 5).

Dentre as implicações da poliembriõnia para as espécies, são hipotetizadas algumas vantagens, como a compensação da redução do número de sementes por fruto (Uma-Shaanker & Ganeshiah, 1997), o aumento das chances de sobrevivência de pelo menos uma plântula por semente (efeito “bet-hedging” *sensu* Ladd & Cappuccino 2005), e o aumento o valor adaptativo por processos dependentes de densidade, onde plântulas crescendo juntas aumentariam seu valor adaptativo quando comparadas a plântulas crescendo isoladamente (efeito “allege effect” *sensu* Cappuccino 2004, Ladd & Cappuccino 2005). Algumas desvantagens para as espécies também são conhecidas, tais como a diminuição de alocação de recursos para cada um dos embriões, anomalias no desenvolvimento embrionário (Mendes-da-Glória *et al.* 2001, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) e aumento da competição entre as plântulas que emergem de uma mesma semente (Hotchkiss *et al.* 2008; Capítulo 5).

O objetivo do estudo foi investigar, em *Handroanthus chrysotrichus*, como a poliembriõnia afeta a alocação de recursos para sementes e embriões, além de testar se a

presença de mais de uma plântula por semente afeta a germinação das sementes, o crescimento e a mortalidade das mesmas.

Material e Métodos

Espécie em estudo

Handroanthus chrysotrichus é amplamente cultivada com fins paisagísticos em áreas urbanas e ocorre naturalmente na Mata Atlântica e Restinga, podendo ser encontrada em outras formações florestais e arbustivas como o Cerrado, especialmente em áreas com perturbações antrópicas sobre solos arenosos (Gentry, 1992). Foram coletadas sementes de cinco indivíduos localizados no campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil (18° 53' 6,64" S, 48° 15' 36,23" O) em 2005. O material testemunho depositado no *Herbarium Uberlandense* (espécimen testemunho: HUFU 52589).

Germinação das sementes

Para a avaliação da germinação, as sementes foram semeadas em 14/09/2005 sob vermiculita (50 cm³, volume de expansão de 0,1 m³) umedecida com água destilada, sempre que necessário, em caixas de plástico transparentes próprias para a germinação (gerbox), sendo mantidas em câmara de germinação (Seedburo Company, model MDG2000, Batavia, Illinois, USA), sob luz contínua e temperatura controlada de ± 25 °C. O experimento contou com cinco tratamentos (indivíduos), com quatro replicações cada um, contendo 32 sementes por replicação. Para a avaliação da capacidade de emergência das plântulas as sementes foram semeadas a cerca de 0,5 cm de profundidade, sob substrato comercial Plantmax[®] (Eucatex Mineral Ltda, São Paulo, Brazil) e vermiculita (volume 1:1), em 13/11/2005, em bandejas multicelulares de poliestireno expandido e cultivadas sob luz plena. O experimento contou

com cinco tratamentos (indivíduos) com quatro replicações cada um, contendo 32 sementes por repetição.

O número de sementes germinadas e/ou de plântulas emergidas foi avaliado diariamente. Como critério de germinação foi adotado a protrusão de qualquer parte do primeiro embrião e de emergência foi adotado a elevação de qualquer parte da primeira plântula acima do nível do substrato. A partir das leituras foram calculadas a germinabilidade (G) e emergência (E) (Labouriau 1983); o tempo médio de germinação (TMG) e de emergência (TME) para avaliação da duração dos processos (Labouriau 1970); o coeficiente de variação do tempo (CV_t ; Santana & Ranal 2006), que foi utilizado para avaliar a dispersão do tempo de germinação (CV_{TG}) e do tempo de emergência (CV_{TE}) ao redor da média; a sincronização da germinação (ZG) e da emergência (ZE), avaliadas utilizando o índice de sincronização Z (Santana & Ranal 2006 adaptado de Primack 1980). Também foi avaliado o dia da primeira e da última semente germinada ($TPSG$ e $TUSG$, respectivamente) e o dia da primeira e da última plântula emergida ($TPPE$ e $TUPE$, respectivamente) para cada uma das replicações. Para detalhes de utilização de cada medida, das expressões matemáticas e dos cálculos, ver Ranal & Santana (2006) e Ranal *et al.* (2009). As medidas foram calculadas em função da data de emergência da primeira plântula de cada semente, pela impossibilidade de acompanhamento da data de emergência de todas as plântulas de uma mesma semente.

Avaliação da poliembrionia

A ocorrência de poliembrionia foi avaliada pelo número de embriões por semente e pelo número de plântulas emergidas por semente, para cada um dos cinco indivíduos estudados. O número de embriões foi avaliado por dissecação das sementes e o número de plântulas por semente foi considerado a soma de todas as plântulas emergidas a partir de uma mesma semente. As sementes utilizadas para a avaliação da poliembrionia foram as mesmas utilizadas no teste de germinação de sementes ($n = 606$) e emergência de plântulas ($n = 563$).

A classe embriônica (CE) de cada semente foi determinada pelo número de embriões e/ou de plântulas produzidas por semente.

Massa dos Embriões

Posteriormente à germinação das sementes, as sementes germinadas foram dissecadas e os embriões foram pesados individualmente em balança digital (AA250 Denver Instrument, precisão de 0,0001 g, Bohemia, New York, USA). O número de embriões avaliados por classe embriônica foi CE1= 50; CE2= 106; CE3= 183; CE4= 132; CE5= 65; CE6= 12; CE7= 21. A massa dos embriões foi estimada pela mensuração da massa inicial das plântulas (no momento da germinação) devido à dificuldade de individualização e mensuração de embriões a partir de sementes não embebidas. A massa embrionária, representada pela soma da massa de todos os embriões de cada semente, foi utilizada como medida da alocação de recursos para sementes de cada uma das diferentes classes embriônicas. O número de sementes avaliadas por classe embriônica foi CE1= 50; CE2= 53; CE3= 61; CE4= 33; CE5= 13; CE6= 2; CE7= 3.

Mortalidade de sementes e plântulas

A partir do experimento de emergência de plântulas, a sobrevivência e o estabelecimento das plântulas foram avaliados. Uma semente foi considerada como morta quando todas as plântulas emergidas dela não sobreviveram. Para isto, foi realizada a contagem das plântulas sobreviventes 44 dias após a semeadura. O número inicial de sementes com plântulas emergidas por classe embriônica foi CE1= 270; CE2= 223; CE3= 61; CE4= 7. A partir desta contagem foi calculada a mortalidade das sementes (n de sementes com todas as plântulas mortas pelo n inicial de sementes da classe) e a mortalidade das plântulas (n de plântulas mortas dividido pelo n inicial de plântulas na classe).

Poliembrionia e crescimento inicial de plântulas

Após 54 dias de semeadura (6/11/2005), uma amostra das plântulas oriundas do experimento de emergência foi exumada e avaliada para se estimar o efeito da poliembriõnia sobre o crescimento inicial das plântulas. Para essas análises, o indivíduo de origem das sementes não foi considerado, devido à insuficiência amostral para algumas das classes embriônicas de alguns deles. Somente foram incluídas plântulas de sementes em que não houve mortalidade de nenhuma plântula da semente durante o experimento, ou seja, aquelas que mantiveram a mesma CE durante todo o experimento. Plântulas gemelares, oriundas de sementes poliembriônicas, foram avaliadas individualmente com medidas da altura da plântula (aferida do coleto até a gema apical, sendo o coleto caracterizado pela região de separação entre o hipocótilo clorofilado e a raiz aclorofilada), o diâmetro do coleto e o número de folhas (todas as plântulas apresentaram somente um folíolo por folha). Todas as plântulas tiveram a massa seca aferida, sendo que as mesmas foram separadas em parte aérea (acima do coleto) e parte subterrânea (abaixo do coleto). Para todas as análises de massa seca as plântulas foram mantidas em estufa a 70 °C, por oito dias, sendo posteriormente avaliadas em balança analítica (AA250 Denver Instrument, precisão de 0,0001 g, Bohemia, New York, USA). A partir das massas foi calculada a razão entre a massa seca aérea e a massa seca total das plântulas (RMAMT), para avaliação da alocação diferencial de recursos entre as partes.

Estimadores de massa de plântulas

As plântulas exumadas após 54 dias de semeadura foram utilizadas para o cálculo de regressões lineares que permitiriam, posteriormente, estimar a massa das plântulas utilizadas no experimento de manipulação de poliembriõnia. Foram calculadas regressões lineares simples, utilizando como variável independente o diâmetro do coleto (DC), a altura da gema apical (AG), o número de folhas (NF) e a combinação das mesmas (AG.DC, AG.DC, DC.NF, AG.DC.NF), e como variável dependente a massa da parte aérea, subterrânea e total de cada uma das plântulas. Foram calculados dois padrões de regressão. No primeiro padrão, o

número de plântulas por semente não foi levado em consideração e as regressões foram calculadas para todas as 81 plântulas em conjunto. No segundo padrão foram calculadas novas regressões separadamente, para cada uma das classes embriônicas (CE1= 25 plântulas; CE2= 20 plântulas e CE3= 15 plântulas). Para as CE4 e CE5, não foram calculadas novas regressões, uma vez que não foram incluídos no experimento de manipulação de poliembrião.

Manipulação da Poliembrião

No intuito de avaliar os efeitos da poliembrião sobre o crescimento das plântulas, foi conduzido um experimento de manipulação da densidade de plântulas por semente e do tipo de competição existente entre as plântulas. Para isto foram utilizadas plântulas obtidas no experimento de emergência, 54 dias após a semeadura. Foram utilizadas plântulas nessa fase devido facilidade de manipulação e mensuração das mesmas. Antes do transplante todas as plântulas tiveram a altura da gema apical, o diâmetro do coleto e o número de folhas avaliados para a estimativa de suas massas aérea, subterrânea e total.

Todas as plântulas foram transplantadas para sacos de plástico (altura = 30 cm; largura = 13 cm), preenchidos com solo de Cerrado. Nos tratamentos com mais de uma plântula as mesmas foram transplantadas juntas umas das outras, como ocorre em plântulas gêmeas. As plântulas foram irrigadas sempre que necessário e mantidas sob sol pleno. O experimento foi instalado no dia 09/11/2005, sendo as repetições dispostas aleatoriamente. A avaliação do experimento ocorreu 124 dias após a instalação (dia 13/11/2006), o que correspondeu a 178 dias após a semeadura.

Foram realizados sete tratamentos que se basearam na densidade de plântulas por unidade amostral, representando a semente (1, 2 ou 3 plântulas por unidade), e o tipo de competição envolvida (ausência de competição, competição intra-específica e competição gemelar). Como controle para o efeito da competição gemelar, foram adotados os tratamentos

Singlet, uma plântula singlet cultivada isoladamente (densidade = 1; ausência de competição gemelar); Doublet, duas plântulas doublet de uma mesma semente cultivadas juntas (densidade = 2; presença de competição gemelar); Triplet, três plântulas triplet de uma mesma semente cultivadas juntas (densidade = 3; presença de competição gemelar). Para a avaliação da inibição da competição gemelar foram adotados os tratamentos 1-Doublet, uma plântula doublet cultivada isoladamente (densidade = 2; ausência de competição gemelar); 1-Triplet, uma plântula triplet cultivada isoladamente (densidade = 3; ausência de competição gemelar). Para a avaliação da competição intra-específica foram adotados os tratamentos 2-Singlet, duas plântulas singlet oriundas de sementes diferentes, cultivadas juntas (densidade = 2; presença de competição intra-específica) e 3-Singlet: três plântulas singlet oriundas de sementes diferentes, cultivadas juntas (densidade = 3; presença de competição intra-específica). Não foram adotadas as densidades de quatro e cinco plântulas gemelares pela baixa frequência dessas classes, além da elevada mortalidade nessas classes. Foram instaladas 60, 30, 20, 65, 50, 30 e 25 repetições para os tratamentos Singlet, Doublet, Triplet, 1-Doublet, 1-Triplet, 2-Singlet e 3-Singlet, respectivamente.

O efeito da poliembrionia sobre as plântulas foi avaliado pela comparação das densidades de cada um dos tratamentos (duas ou três plântulas) com o tipo de competição envolvido (ausência de competição, gemelar ou intra-específica). Comparações do controle e da inibição permitem dizer se o efeito é causado pela presença de outra plântula, ou pelo tamanho inicial reduzido gerado pela diminuição de recursos para os embriões. Comparações da competição gemelar com a intra-específica permitem dizer se o efeito é unicamente causado pela densidade ou resultado da densidade associada à redução de tamanho gerada pela poliembrionia.

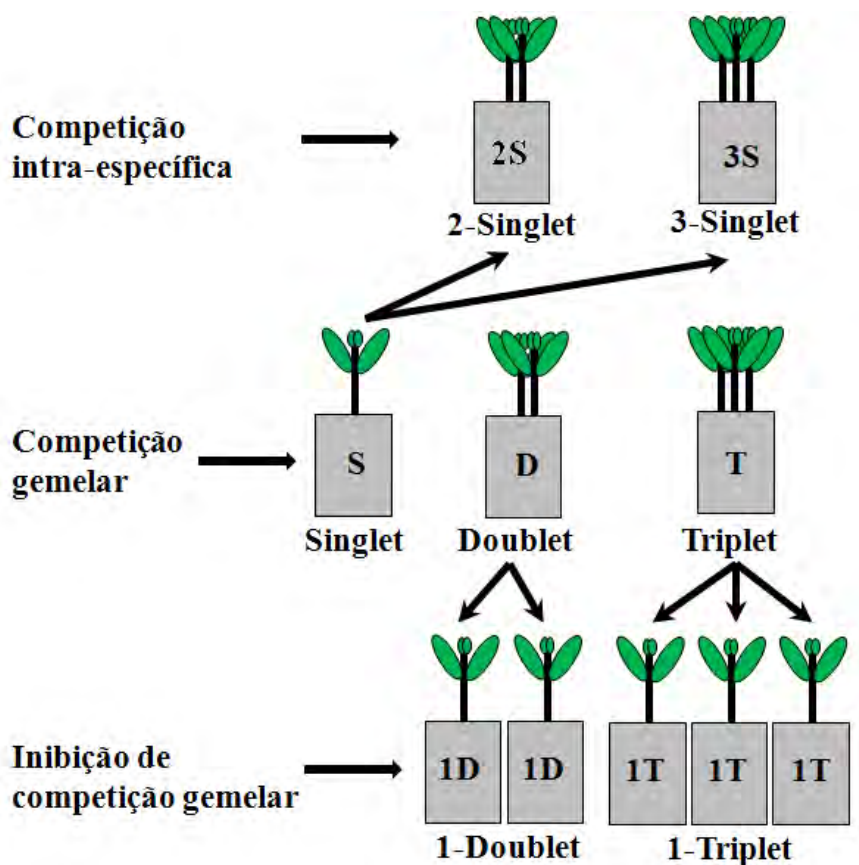


Figura 1. Proposta de modelo experimental adotado em *Handroanthus chrysotrichus* para a avaliação do crescimento de plântulas gemelares oriundas de sementes poliembriônicas (presença de mais de um embrião por semente).

Legenda para tratamentos:

Tratamentos para controle ou competição gemelar: Plântulas gemelares cultivadas juntas sem alteração da densidade original ou do tipo de competição. S: Singlet, uma plântula por semente, D: Doublet, duas plântulas por semente; T: Triplet, três plântulas por semente.

Tratamentos para competição intra-específica: Plântulas singlet cultivadas juntas em diferentes densidades. 2S: 2-Singlet, Duas plântulas singlet cultivadas juntas e 3S: 3-Singlet, três plântulas singlet cultivadas juntas.

Tratamentos para inibição de competição gemelar: Plântulas gemelares cultivadas isoladamente. 1D: 1-Doublet, uma plântula doublet cultivada sozinha e 1T: 1-Triplet uma plântula triplet cultivada sozinha

A intensidade da competição foi testada, utilizando-se a comparação dos padrões S, D e T com os padrões S, 2S, e 3S e com os padrões S, SD e ST. Os tratamentos S, D e T foram utilizados para o cálculo da intensidade da competição gemelar; os tratamentos S, 2S, e 3S foram utilizados para o cálculo da intensidade da competição intra-específica e os tratamentos S, SD e ST foram usados para testar o efeito da intensidade da inibição da competição gemelar. Foi realizada uma análise de regressão com o número de plântulas por semente como variável independente dentro dos padrões (nível 1: S, nível 2: D, SD e 2S e nível 3: T, ST e 3S) e as medidas das plântulas como variáveis dependentes. A inclinação da reta foi utilizada como um índice de intensidade da competição, já que expressa o valor de acréscimo ou de decréscimo de y (medida da plântula) para cada unidade de x (número de plântulas por semente). Foram calculadas as taxas de crescimento relativo para a massa aérea (TCRMA), subterrânea (TCRMS) e total (TCRMT), para todas as plântulas. Foi utilizada a expressão $TCR = (\ln MF - \ln MI) / (TF - TI)$; onde TCR é a taxa de crescimento relativo, em $mg\ mg^{-1}\ dia^{-1}$, \ln é o logaritmo neperiano, MF é a massa final aos 124 dias, MI é a massa no início do experimento, estimada a partir dos modelos de regressão, TF é a data da avaliação do experimento, 124 dias; e TI é o tempo da instalação do experimento, zero.

Análises estatísticas

As diferenças nas medidas de germinação e emergência foram testadas com ANOVA de um fator (indivíduos). A frequência de poliembriõnia foi testada com ANOVA de dois fatores, com avaliação do método (dissecação e emergência) e do indivíduo amostrado, e as médias foram comparadas entre si com o uso de teste de Scott-Knott. As *PSP* (porcentagem de sementes poliembriônicas) e as *PCEP* (porcentagem de conversão de embriões em plântulas) foram comparadas par a par com uso do teste t de “Student” para proporções. A biometria das plântulas aos 54, 124 dias e o experimento de manipulação de poliembriõnia foram comparados usando ANOVA de um fator e as médias foram comparadas com o uso do

teste de Scott-Knott. Os ajustes dos modelos de intensidade de competição foram testados com ANOVA. Todos os ajustes dos modelos de predição de massa foram baseados em regressões lineares e testados com uso de ANOVA. Para o modelo geral, independente da classe embriônica, foi realizada também uma comparação das médias estimadas com as amostradas com a utilização de ANOVA de dois fatores com o fator estimador (fator de predição: AG, DC, NF, AG.DC, AG.NF, DC.NF, AG.DC.NF) e número plântulas por semente (1; 2; 3; 4; e 5); para os modelos calculados para cada número de plântulas por semente foi realizada ANOVA de um fator (fator de predição) e as médias foram comparadas entre si com Scott-Knott. As inclinações dos modelos de predição também foram testadas com uso do teste *t* de “Student”. Para avaliação da relação da massa aérea, subterrânea e total com as suas TCR aos 124 dias, foi realizado o ajuste dos resíduos de cada tratamento a um modelo de regressão linear que foi testado com o uso de ANOVA. Os resíduos foram utilizados para a retirada dos efeitos dos tratamentos (Santana & Ranal 2006). Os estimadores de intensidade de competição foram obtidos com auxílio de ajustes à regressão linear, com densidade como fator fixo. O ajuste do modelo foi testado com ANOVA e as inclinações das retas foram comparadas entre os tratamentos de competição, par a par, com o uso de teste *t* de “Student”.

Resultados

Germinação das sementes

Sementes de todos os indivíduos apresentaram alta germinabilidade (média geral, $G = 97,34\%$) e porcentagem de emergência (média geral, $E = 90,16\%$), sem diferenças nas medidas de germinação e de emergência avaliadas (Tabela 1). A germinação e a emergência foram rápidas, durando de oito a 31 dias, com baixa variabilidade em torno do tempo médio ($CV_{TG} = 9,36\%$ e $CV_{TE} = 13,03\%$) e com a germinação mais sincrônica que a emergência (ZG

= 0,32 e $ZE = 0,16$). As diferentes classes embriônicas mostraram o mesmo padrão de emergência com diferenças somente para os tempos finais de emergência entre as classes CE1 e da CE3 (Tabela 2).

Tabela 1. Medidas de germinação e emergência, média geral, de sementes de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), coletadas em 2005 a partir de cinco indivíduos poliembriônicos no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Germinação (n = 20)			Emergência (n = 20)		
Medida (unidade)	Média ± EP	F (P)	Medida (unidade)	Média ± EP	F (P)
G (%)	97,34 ± 0,73	1,86 (0,1710)	E (%)	90,16 ± 2,51	2,98 (0,0535)
TPSG (dia)	10,25 ± 0,20	1,28 (0,3227)	TPPE (dia)	16,75 ± 0,18	1,59 (0,2280)
TUSG (dia)	15,50 ± 0,28	1,83 (0,1762)	TUPE (dia)	27,65 ± 0,78	0,29 (0,8812)
TMG (dia)	12,04 ± 0,12	1,49 (0,2559)	TME (dia)	19,68 ± 0,19	0,61 (0,6622)
CV _{TG} (%)	9,36 ± 0,62	1,78 (0,1846)	CV _{TE} (%)	13,03 ± 0,69	0,19 (0,9421)
ZG	0,32 ± 0,02	1,88 (0,1660)	ZE	0,16 ± 0,01	0,39 (0,8123)

Legenda: F: estatística F de Snedecor da ANOVA para a comparação entre os indivíduos, P: probabilidade; G (germinabilidade), E (emergência), TPSG (tempo da primeira semente germinada), TPPE (tempo da primeira plântula emergida), TUSG (tempo da última semente germinada); TUPE (tempo da última plântula emergida); TMG (tempo médio de germinação); TME (tempo médio de emergência); CV_{TG} (Coeficiente de variação do tempo de germinação); CV_{TE} (Coeficiente de variação do tempo de emergência); ZG (índice de sincronização da germinação), ZE (índice de sincronização da emergência).

Tabela 2. Medidas de emergência de sementes, média geral, classificadas em função do número de plântulas gemelares produzidas por semente de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), coletadas a partir de cinco indivíduos poliembriônicos em 2005 no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Medida (unidade)	Nº de plântulas por semente ¹			F (P)
	1	2	3	
TPPE (dia)	16,20 ± 0,20 a	16,20 ± 0,20 a	17,00 ± 0,45 a	2,29 (0,1442)
TUPE (dia)	29,40 ± 1,12 a	25,40 ± 1,29 ab	23,00 ± 0,95 b	8,20 (0,0057)
TME (dia)	19,73 ± 0,17 a	19,29 ± 0,23 a	19,30 ± 0,06 a	2,27 (0,1456)
CV _{TE} (%)	13,95 ± 1,09 a	10,60 ± 1,11 a	9,36 ± 1,56 a	3,47 (0,0646)
ZE	0,15 ± 0,004 a	0,16 ± 0,01 a	0,15 ± 0,05 a	0,06 (0,9426)

Legenda: F: estatística F de Snedecor da ANOVA para a comparação entre os indivíduos, P: probabilidade; TPPE (tempo da primeira plântula emergida), TUPE (tempo da última plântula emergida); TME (tempo médio de emergência); CV_{TE} (Coeficiente de variação do tempo de emergência); ZE (índice de sincronização da emergência).

¹ Médias ± (erro padrão) seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey.

Avaliação da poliembrionia

A poliembrionia variou em função do método de amostragem, com o número de embriões maior que o de plântulas ($F_{1;1159} = 88,29$; $P < 0,0001$), com diferenças marcadas entre indivíduos ($F_{4;1159} = 8,28$; $P < 0,0001$) e com interação entre os fatores indivíduo e o método de avaliação ($F_{4;1159} = 3,91$; $P = 0,0037$). Os indivíduos 4 e 5 apresentaram a maior média de embriões por semente (NMES= 2,44 embrião.semente⁻¹) e o 3 a menor (1,79 embrião.semente⁻¹), enquanto os indivíduos não mostraram diferenças na média de plântulas por semente (média geral: 1,66 plântula.semente⁻¹). Todos os indivíduos produziram mais

embriões por semente que plântulas por semente, embora com taxas de conversão de embriões em plântulas diferentes (variação de 58,38 a 76,45%); o que gerou a interação entre os fatores método de amostragem e indivíduo. A frequência de sementes poliembriônicas variou de 55,00 a 77,60% para germinação e de 36,26 a 61,86% para emergência (Tabela 3). O número de embriões variou de um a sete com maior frequência na CE2 (34,82%) e o número de plântulas variou de uma a cinco com maior frequência na CE1 (47,96%; Figura 2).

Tabela 3. Amostragem da poliembrião em *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), a partir de sementes oriundas de cinco indivíduos coletadas no ano de 2005, no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil com base em dois métodos de amostragem de poliembrião, a dissecação de sementes (contagem do número de embriões) e a emergência de plântulas (contagem do número de plântulas).

Indivíduo	Método	Média ± EP (n) ¹	PSP (%) ²	PCEP (%) ²
1	Dissecação	2,10 ± 0,10 (124) B	65,32 BC	-
2	Dissecação	2,11 ± 0,10 (118) B	67,80 AB	-
3	Dissecação	1,79 ± 0,08 (120) C	55,00 C	-
4	Dissecação	2,44 ± 0,10 (125) A	77,60 A	-
5	Dissecação	2,44 ± 0,11 (119) A	75,63 AB	-
1	Emergência	1,59 ± 0,07 (117) A	47,01 BC	69,21 AB
2	Emergência	1,78 ± 0,07 (116) A	61,21 A	76,45 A
3	Emergência	1,47 ± 0,08 (91) A	36,26 C	58,38 C
4	Emergência	1,78 ± 0,07 (118) A	61,86 A	67,25 B
5	Emergência	1,64 ± 0,07 (121) A	50,41 AB	63,54 BC
Todos	Dissecação	2,18 ± 0,05 (606) a	68,32 a	-
Todos	Emergência	1,66 ± 0,03 (563) b	52,04 b	66,99

¹ A poliembrião variou em função do método ($F_{1,1159} = 88,29$; $P < 0,0001$), indivíduo ($F_{4,1159} = 8,28$; $P < 0,0001$) e da interação entre os dois fatores ($F_{4,1159} = 3,91$; $P = 0,0037$). As médias seguidas pela mesma letra (maiúsculas para dissecação, maiúsculas e em itálico para emergência, e minúsculas para método) não apresentam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott.

² As médias seguidas pela mesma letra não apresentam diferença significativa pelo teste *t* de “Student” para proporções para a PSP e PCEP.

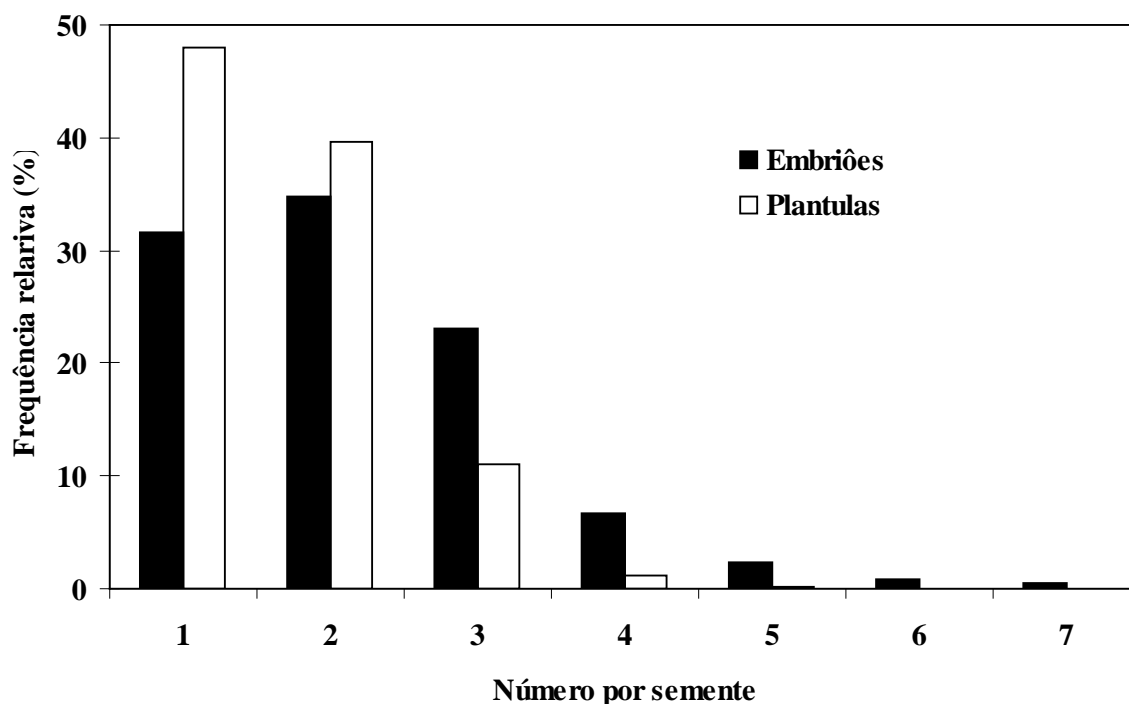


Figura 2. Frequência relativa do número de embriões e plântulas por semente em *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), ano de 2005, coletadas no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Massa dos Embriões

A massa embrionária média (média da massa de todos os embriões de uma semente) variou entre as sementes com diferentes número de embriões ($F_{6;208} = 2,29$; $P = 0,0364$), enquanto a massa individual média de cada embrião variou entre as sementes com diferentes números de embriões ($F_{6;562} = 43,79$; $P < 0,0001$) e se ajustou ao modelo potencial ($y = 22,887x^{-0,899}$; $R^2 = 0,9939$) (Figura 3).

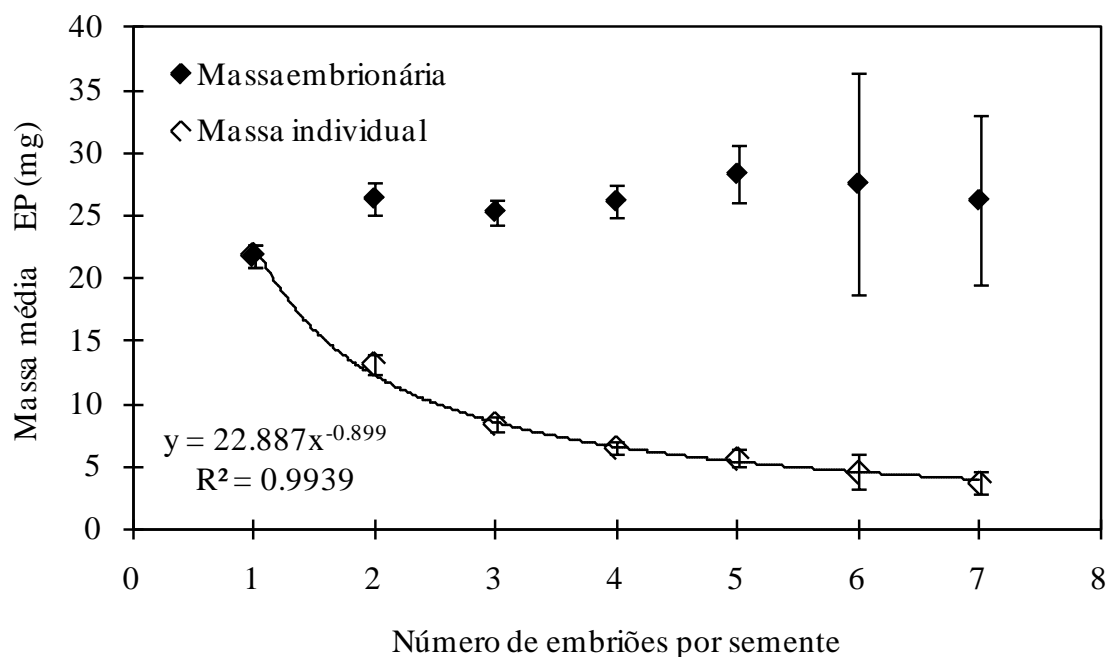


Figura 3. Média (\pm erro padrão) da massa embrionária (soma de todos os embriões de uma semente) e massa individual de embriões amostrados em função do número do número de embriões produzido por semente, oriundos de indivíduos poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), coletados no ano de 2005, no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Mortalidade de sementes e plântulas

A mortalidade de sementes após 44 dias de semeadura (sementes com pelo menos uma plântula sobrevivente) diminuiu linearmente com o aumento do número de plântulas por semente (Figura 4A), ajustando-se ao modelo linear ($F_{1,2} = 56,36$; $P = 0,0139$). Por outro lado, a mortalidade de plântulas aumentou linearmente com o aumento do número de plântulas por semente (Figura 4B), também se ajustando bem ao modelo linear ($F_{1,2} = 31,37$; $P = 0,0268$).

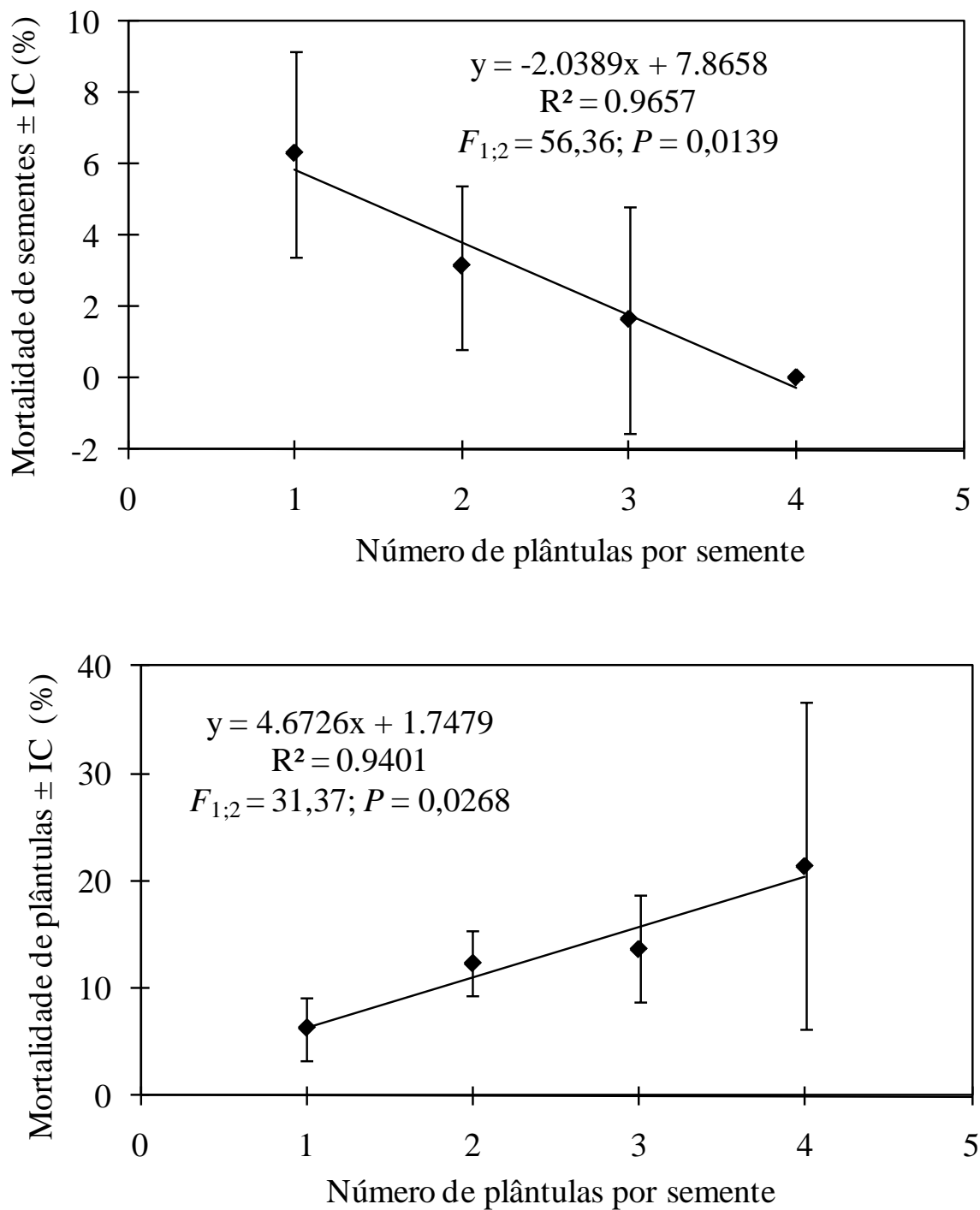


Figura 4. Mortalidade (\pm intervalo de confiança, IC) de sementes e plântulas, após 44 dias de semeadura a pleno sol, oriundas de indivíduos poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), coletados no ano de 2005, no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 4. Biometria de plântulas gemelares oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) cultivadas por 54 dias sob luz plena em Uberlândia, Minas Gerais - Brasil.

Característica (unidade)	Numero de plântulas por semente (n) ¹					F (P)
	1 (25)	2 (20)	3 (15)	4 (16)	5 (5)	
Altura da plântula (mm)	33,77 ± 0,79 a	29,62 ± 0,79 b	27,77 ± 1,02 b	18,43 ± 1,59 c	17,84 ± 3,72 c	31,53 (< 0,0001)
Diâmetro do coleto (mm)	1,94 ± 0,04 a	1,36 ± 0,06 b	1,12 ± 0,05 c	0,86 ± 0,07 d	0,94 ± 0,21 d	59,31 (< 0,0001)
Número de folhas	4,72 ± 0,20 a	4,00 ± 0,15 b	3,87 ± 0,13 b	3,38 ± 0,24 c	3,20 ± 0,49 c	8,06 (0,0002)
Massa seca aérea (mg)	101,21 ± 4,38 a	57,08 ± 4,69 b	30,97 ± 3,29 c	17,35 ± 4,05 d	33,76 ± 9,66 c	59,06 (< 0,0001)
Massa seca subterrânea (mg)	45,69 ± 2,52 a	37,46 ± 3,40 b	20,46 ± 2,80 c	14,25 ± 2,85 c	21,26 ± 3,88 c	20,16 (< 0,0001)
Massa seca total (mg)	146,9 ± 6,16 a	94,54 ± 7,76 b	51,43 ± 5,30 c	31,6 ± 5,99 d	55,02 ± 13,28 c	48,92 (< 0,0001)
Razão massa aérea /massa total	0,69 ± 0,01 a	0,61 ± 0,01 b	0,61 ± 0,02 b	0,52 ± 0,05 c	0,59 ± 0,03 b	7,29 (0,0005)

¹ Médias ± (erro padrão) seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

Legenda: F: estatística F de Snedecor da ANOVA, P: probabilidade.

Poliembrionia e crescimento inicial de plântulas

Após 54 dias de semeadura todas as medidas das plântulas gemelares foram diferentes entre as classes embriônicas amostradas (Tabela 4). As plântulas singlet apresentaram os maiores valores para as medidas avaliadas, com exceção da massa seca aérea que apresentou o mesmo valor que as plântulas doublet (Tabela 4). Todas as características das plântulas avaliadas mostraram diminuição linear das medidas com o aumento do número de plântulas por semente, sempre com valores da inclinação (*b*) negativos (Tabela 5). A única exceção foi a razão massa aérea/massa total que não mostrou a tendência de diminuição ou aumento em função do aumento do número de plântulas por semente (*b* = -0,03; *F* = 1,06; *P* > 0,05; Tabela 5).

As plântulas poliembriônicas mostraram um investimento ao nível de semente somente benéfico quando foram produzidas duas plântulas por semente. A massa seca aérea, massa seca subterrânea e a massa seca total se ajustaram a um modelo de segundo grau com aumento da massa média nas densidades próximas a duas plântulas por semente, com um seguido decréscimo nas médias com densidades de três e quatro plântulas por semente (Figura 5). Ao nível de plântulas a massa seca aérea, subterrânea e total de cada uma das plântulas diminuiu linearmente com o aumento do número de plântulas por semente (Figura 5).

Tabela 5. Intensidade da competição entre plântulas oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), cultivadas por 54 dias a pleno sol em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Característica (unidade)	R^2	a	b	F
Altura da plântula (mm)	0,9311	38,46	-4,33	96,07 **
Diâmetro do coleto (mm)	0,7089	1,96	-0,24	67,06 **
Número de folhas	0,9418	4,93	-0,37	22,84 **
Massa seca aérea (mg)	0,7010	100,51	-17,47	99,27 **
Massa seca subterrânea (mg)	0,7496	49,50	-7,23	38,94 **
Massa seca total (mg)	0,7244	149,87	-24,64	86,30 **
Razão massa aérea/massa total	0,0785	0,97	-0,03	1,06 ns

Legenda: R^2 : coeficiente de determinação, a : intercepto, b : inclinação, F : F de Snedecor da ANOVA, *: $P < 0,05$; ns: $P > 0,05$.

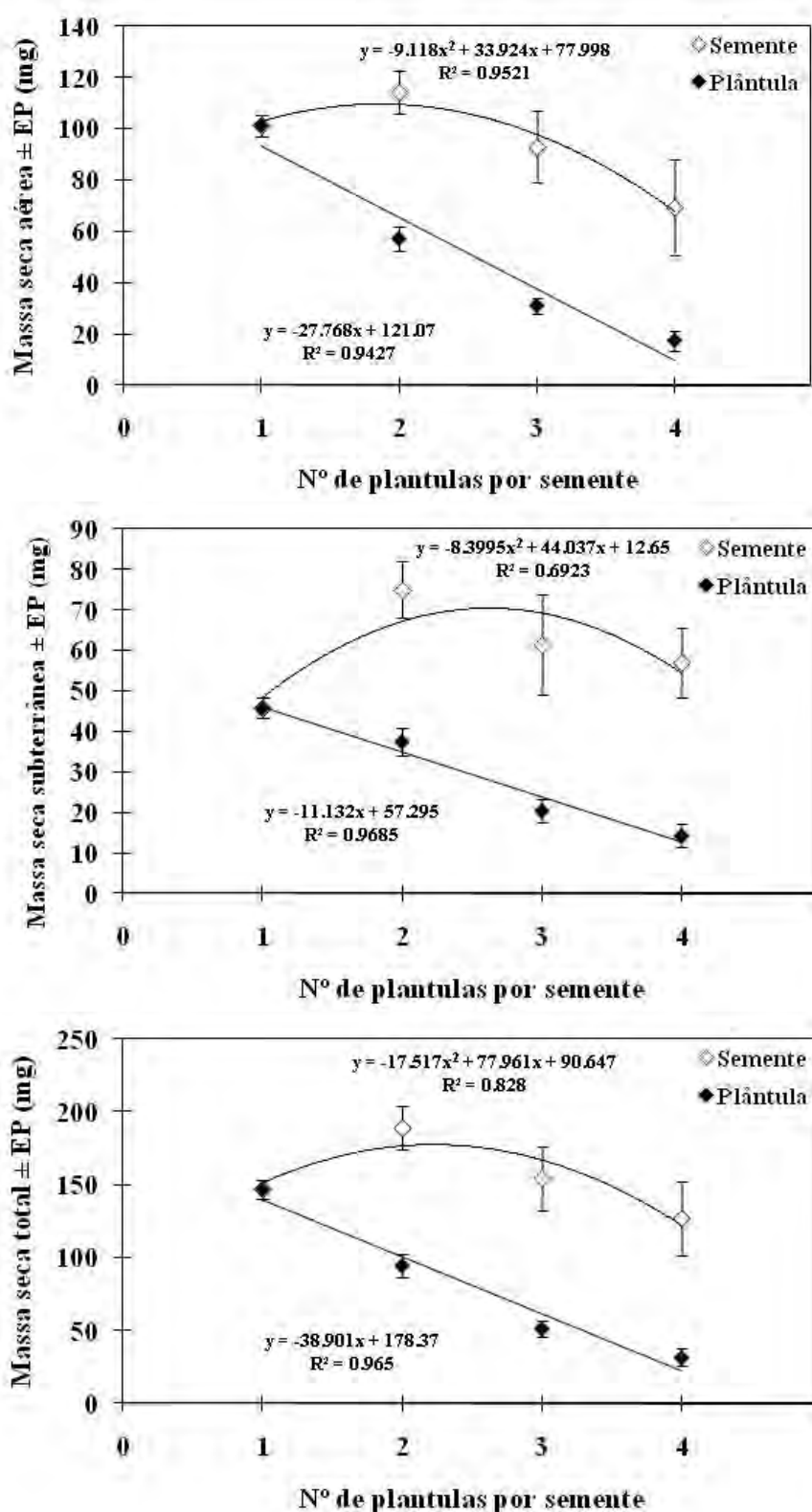


Figura 5. Massa média aérea, subterrânea e total (\pm erro padrão) produzidas por semente e por plântula gemelar oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) coletadas em 2005 e cultivadas por 54 dias a pleno sol, no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Estimadores de Massa

Dentre as regressões obtidas foram selecionadas as das classes Singlet (massa aérea: $y = 57,1411 + 0,2755.AG.NF$; massa total: $y = 92,1275 + 0,3425.AG.NF$); Doublet (massa aérea: $y = 0,1561 + 1,3942.AG.DC$; massa subterrânea: $y = -14,9417 + 0,4449DG.NF$; massa total: $y = 17,9225 + 0,4696.AG.DC.NF$) e Triplet (massa aérea: $y = -15,0222 + 41,0675.DC$; massa total: $y = -5,6650 + 1,8073.AG.DC$). Como as regressões para a massa subterrânea das plântulas Singlet e Triplet não foram significativas, foi adotada a regressão geral para Singlet ($y = -6,15 + 27,31.DC$) e para Triplet ($y = 12,55 + 0,11.AG.DC.NF$). Essas regressões foram selecionadas por apresentarem os maiores coeficientes de determinação, por não apresentarem massas estimadas diferentes das massas originais das medidas (Tabelas 6-9) e por não estimarem valores negativos para as plântulas utilizadas no experimento de manipulação da poliembrião, o que impediria o cálculo da taxa de crescimento relativo.

Tabela 6. Análise de regressão, independente do número de plântulas produzidas por semente, para a estimativa da massa aérea, subterrânea e total em mg de plântulas gemelares de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) cultivadas por 54 dias a pleno sol em Uberlândia, Minas Gerais – Brasil.

Legenda: AG: Altura da gema apical em mm; DC: Diâmetro do coleto em mm; NF: Número de folhas; *F*: estatística *F* para regressão; *t*: estatística para o teste *t* de “Student” aplicado para o parâmetro inclinação, *R*²: coeficiente de determinação da regressão; ** *P* < 0,05.

Variáveis		Equação		Estatísticas	
Dependente	Independente	$y = a + bx$	<i>R</i> ²	<i>F</i>	<i>t</i>
Massa aérea (mg)	AG	-47,46 + 3,77x	0,5655	102,81 **	10,14 **
	DC	-36,94 + 68,24x	0,7614	252,09 **	15,88 **
	NF	-39,91 + 23,97x	0,3808	48,47 **	6,96 **
	AG.CD	-6,79 + 1,55x	0,7720	267,49 **	16,36 **
	AG.NF	-17,05 + 0,64x	0,6350	137,42 **	11,72 **
	DC.NF	-5,43 + 10,63x	0,7095	192,92 **	13,89 **
	AG.DC.NF	6,90 + 0,28x	0,7500	236,95 **	15,39 **
Massa subterrânea (mg)	AG	-12,16 + 1,57x	0,4531	65,44 **	8,09 **
	DC	-6,15 + 27,31x	0,5605	100,76 **	10,04 **
	NF	-10,20 + 10,30x	0,3228	37,66 **	6,14 **
	AG.CD	6,48 + 0,61x	0,5429	93,84 **	9,69 **
	AG.NF	1,87 + 0,25x	0,4654	68,77 **	8,29 **
	DC.NF	7,07 + 4,15x	0,4968	77,98 **	8,83 **
	AG.DC.NF	12,55 + 0,11x	0,4892	75,67 **	8,70 **
Massa total (mg)	AG	-59,62 + 5,34x	0,5730	105,99 **	10,30 **
	DC	-43,10 + 95,55x	0,7527	240,48 **	15,51 **
	NF	-50,11 + 34,28x	0,3920	50,93 **	7,14 **
	AG.CD	-0,31 + 2,16x	0,7534	241,34 **	15,54 **
	AG.NF	-15,18 + 0,89x	0,6270	132,77 **	11,52 **
	DC.NF	1,64 + 14,77x	0,6915	177,09 **	13,31 **
	AG.DC.NF	19,45 + 0,38x	0,7168	199,93 **	14,14 **

Tabela 7. Comparações entre os valores médios da massa aérea, subterrânea e total (mg) de plântulas gemelares de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) com 54 dias de semeadura, comparadas aos valores médios estimados a partir de regressões lineares com uso das medidas originais das plântulas, independente do número de plântulas produzido por semente.

Legenda: AG: altura da gema apical; DC: diâmetro do coleto, NF: número de folhas.

Medida		Número de plântulas por semente					Média
Massa Aérea	Fator	1	2	3	4	5	
	Original	101,21 a	57,08 a	30,97 b	17,35 b	33,76 a	56,58
	AG	79,86 b	64,21 a	57,24 a	22,02 b	19,80 a	56,68
	DC	95,58 a	55,87 a	39,49 b	21,70 b	27,21 a	56,57
	NF	73,22 b	55,97 a	52,77 a	40,99 a	36,79 a	56,56
	AG.DC	95,26 a	56,50 a	42,18 b	19,98 b	23,84 a	56,58
	AG.NF	85,31 b	58,33 a	52,28 a	25,93 b	23,83 a	57,01
	DC.NF	92,79 a	52,66 a	41,20 b	27,59 b	30,29 a	56,59
	AG.DC.NF	94,86 a	52,58 a	41,74 b	25,25 b	27,85 a	56,69
		$F(P)_{\text{Fator}}: 0,005 (P = 1,0000)$					
		$F(P)_{\text{Embrião}}: 283,98 (P < 0,0001)$					
		$F(P)_{\text{Fator x Embrião}}: 3,29 (P < 0,0001)$					
Massa Subterrânea		Número de plântulas por semente					Média
	Fator	1	2	3	4	5	
	Original	45,69 a	37,45 a	20,46 b	14,25 a	21,26 a	31,27
	AG	40,86 b	34,34 a	31,44 a	16,78 a	15,85 a	31,21
	DC	46,89 a	30,99 b	24,44 b	17,32 a	19,52 a	31,27
	NF	38,42 b	31,00 b	29,63 a	24,56 a	22,76 a	31,25
	AG.DC	46,64 a	31,85 b	25,75 b	17,02 a	18,53 a	30,80
	AG.NF	41,85 b	31,32 b	28,95 a	18,66 a	17,84 a	31,42
	DC.NF	45,42 a	29,75 b	25,27 b	19,96 a	21,01 a	31,28
	AG.DC.NF	47,11 a	30,50 b	26,24 b	19,76 a	20,78 a	32,11
		$F(P)_{\text{Fator}}: 0,16 (P = 0,9930)$					
		$F(P)_{\text{Embrião}}: 223,99 (P < 0,0001)$					
		$F(P)_{\text{Fator x Embrião}}: 2,68 (< 0,0001)$					
Massa Total		Número de plântulas por semente					Média
	Fator	1	2	3	4	5	
	Original	146,90 a	94,53 a	51,43 b	31,60 b	55,02 a	87,84
	AG	120,72 b	98,55 a	88,69 a	38,80 b	35,64 a	87,88
	DC	142,46 a	86,85 a	63,92 b	39,02 b	46,72 a	87,85
	NF	111,69 b	87,01 a	82,44 a	65,58 a	59,59 a	87,84
	AG.DC	141,89 a	87,88 a	67,93 b	37,00 b	42,38 a	87,81
	AG.NF	127,16 b	89,64 a	81,24 a	44,60 b	41,67 a	88,00
	DC.NF	138,12 a	82,36 a	66,43 b	47,52 b	51,27 a	87,82
	AG.DC.NF	138,83 a	81,44 a	66,74 b	44,35 b	47,89 a	87,03
		$F(P)_{\text{Fator}}: 0,01 (P = 1,0000)$					
		$F(P)_{\text{Embrião}}: 274,87 (P < 0,0001)$					
		$F(P)_{\text{Fator x Embrião}}: 3,09 (P < 0,0001)$					

Tabela 8. Análise de regressão para a estimativa da massa aérea em mg de plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) cultivadas por 54 dias a pleno sol em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, obtidas para diferentes número de plântulas por semente.

¹Médias seguidas de letras diferentes, comparadas para cada número de plântulas por semente, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

Legenda: AG: Altura da gema apical em mm; DC: Diâmetro do coleto em mm; NF: Número de folhas; *F*: estatística *F* para regressão; *t*: estatística para o teste *t* de “Student” aplicado para o parâmetro inclinação, *R*²: coeficiente de determinação da regressão; ** *P* < 0,05.

Estimador	Número de plântulas por semente	Equação		Estatísticas		
		$y = a + bx$	<i>R</i> ²	<i>F</i>	<i>t</i>	Média ¹
AG	1	43,9369 + 1,6958x	0,0940	2,39 ns	1,54 ns	101,21 a
DC	1	76,9134 + 12,5101x	0,0123	0,29 ns	0,54 ns	101,21 a
NF	1	53,7507 + 10,0545x	0,2026	5,84 *	2,42 *	101,21 a
AG.DC	1	68,3150 + 0,4996x	0,0704	1,74 ns	1,32 ns	101,20 a
AG.NF	1	57,1411 + 0,2755x	0,2614	8,14 **	2,85 **	101,21 a
DC.NF	1	67,2481 + 3,6753x	0,1666	4,60 *	2,14 *	101,21 a
AG.DC.NF	1	68,3818 + 0,1045x	0,2147	6,29 *	2,51 *	101,21 a
Original	1					101,21 a
AG	2	-60,1644 + 3,9583x	0,4479	14,60 **	3,82 **	57,08 a
DC	2	-24,3779 + 59,8955x	0,4961	17,72 **	4,21 **	57,08 a
NF	2	48,0800 + 2,2500x	0,0048	0,09 ns	0,30 ns	57,08 a
AG.DC	2	0,1561 + 1,3942x	0,5563	22,57 **	4,75 **	57,08 a
AG.NF	2	-18,8798 + 0,6449x	0,3539	9,86 **	3,14 **	57,08 a
DC.NF	2	12,0561 + 8,2386x	0,2837	7,13 *	2,67 *	57,08 a
AG.DC.NF	2	7,8195 + 0,3019x	0,5062	18,45 **	4,30 **	57,07 a
Original	2					57,08 a
AG	3	-3,4048 + 1,2378x	0,1465	2,23 ns	1,49 ns	30,97 a
DC	3	-15,0222 + 41,0675x	0,3729	7,73 *	2,78 *	30,97 a
NF	3	-6,4643 + 9,6821x	0,1535	2,36 ns	1,54 ns	30,97 a
AG.DC	3	5,1544 + 0,8172x	0,3082	5,79 *	2,41 *	30,97 a
AG.NF	3	4,3274 + 0,2460x	0,1972	3,19 ns	1,79 ns	30,97 a
DC.NF	3	-1,5104 + 7,4051x	0,3511	7,03 *	2,65 *	30,97 a
AG.DC.NF	3	8,1238 + 0,1836x	0,3192	6,09 *	2,47 *	30,97 a
Original	3					30,97 a

Tabela 9. Análise de regressão para a estimativa da massa subterrânea em mg de plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) cultivadas por 54 dias a pleno sol em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, obtidas para diferentes número de plântulas por semente.

¹Médias seguidas de letras diferentes, comparadas para cada número de plântulas por semente, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

Legenda: AG: Altura da gema apical em mm; DC: Diâmetro do coleto em mm; NF: Número de folhas; *F*: estatística *F* para regressão; *t*: estatística para o teste *t* de “Student” aplicado para o parâmetro inclinação, *R*²: coeficiente de determinação da regressão; ** *P* < 0,05.

Estimador	Número de plântulas por semente	Equação		Estatísticas		
		$y = a + bx$	<i>R</i> ²	<i>F</i>	<i>t</i>	Média ¹
AG	1	37,0780 + 0,4031x	0,0160	0,37 ns	0,61 ns	50,69 a
DC	1	37,6127 + 4,1603x	0,0041	0,09 ns	0,31 ns	45,69 b
NF	1	32,1007 + 2,8795x	0,0500	1,21 ns	1,10 ns	45,69 b
AG.DC	1	37,6520 + 0,1221x	0,0127	0,29 ns	0,54 ns	45,69 b
AG.NF	1	34,9864 + 0,0669x	0,0464	1,12 ns	1,06 ns	45,68 b
DC.NF	1	36,0317 + 1,0455x	0,0405	0,97 ns	0,99 ns	45,69 b
AG.DC.NF	1	37,7987 + 0,0251x	0,0373	0,89 ns	0,94 ns	45,68 b
Original	1					45,69 b
AG	2	-18,7971 + 1,8991x	0,1965	4,40 ns	2,10 ns	37,46 a
DC	2	-1,0419 + 28,3066x	0,2112	4,82 *	2,20 *	37,46 a
NF	2	14,1550 + 5,8250x	0,0618	1,19 ns	1,09 ns	37,46 a
AG.DC	2	10,9256 + 0,6498x	0,2303	5,39 *	2,32 *	37,46 a
AG.NF	2	-149417 + 0,4449x	0,3210	8,51 **	2,92 **	37,45 a
DC.NF	2	8,4641 + 5,3048x	0,2242	5,20 *	2,28 *	37,46 a
AG.DC.NF	2	10,1030 + 0,1677x	0,2975	7,62 **	2,76 **	37,46 a
Original	2					37,46 a
AG	3	-27,2990 + 1,7196x	0,3918	8,37 *	2,89 *	20,46 a
DC	3	-29,9667 + 45,0238x	0,6209	21,30 **	4,61 **	20,46 a
NF	3	-10,9429 + 8,1214x	0,1497	2,29 ns	1,51 ns	20,46 a
AG.DC	3	-10,8194 + 0,9901x	0,6267	21,83 **	4,67 **	20,43 a
AG.NF	3	-10,5525 + 0,2863x	0,3701	7,64 *	2,76 *	20,46 a
DC.NF	3	-13,1949 + 7,6721x	0,5222	14,21 **	3,77 **	20,46 a
AG.DC.NF	3	-6,0964 + 0,2134x	0,5973	19,28 **	4,39 **	20,46 a
Original	3					20,46 a

Tabela 10. Análise de regressão para a estimativa da massa total em mg de plântulas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) cultivadas por 54 dias a pleno sol em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, obtidas para diferentes número de plântulas por semente.

¹Médias seguidas de letras diferentes, comparadas para cada número de plântulas por semente, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

Legenda: AG: Altura da gema apical em mm; DC: Diâmetro do coleto em mm; NF: Número de folhas; *F*: estatística *F* para regressão; *t*: estatística para o teste *t* de “Student” aplicado para o parâmetro inclinação, *R*²: coeficiente de determinação da regressão; ** *P* < 0,05.

Estimador	Número de plântulas por semente	Equação		Estatísticas		
		$y = a + bx$	<i>R</i> ²	<i>F</i>	<i>t</i>	Média ¹
AG	1	76,0149 + 2,0989x	0,0727	1,80 ns	1,34 ns	146,90 a
DC	1	114,5262 + 16,6704x	0,0110	0,26 ns	0,51 ns	146,90 a
NF	1	85,8514 + 12,9340x	0,1693	4,69 *	2,17 *	146,90 a
AG.DC	1	105,9670 + 0,6217x	0,0551	1,34 ns	1,16 ns	146,90 a
AG.NF	1	92,1275 + 0,3425x	0,2040	5,89 *	2,43 *	146,91 a
DC.NF	1	103,2798 + 4,7208x	0,1388	3,71 ns	1,93 ns	146,90 a
AG.DC.NF	1	106,1805 + 0,1296x	0,1669	4,61 *	2,15 *	146,90 a
Original	1					146,90 a
AG	2	-78,9615 + 5,8574x	0,3587	10,07 **	3,17 **	94,54 a
DC	2	-25,4198 + 88,2021x	0,3935	11,68 **	3,42 **	94,53 a
NF	2	62,2350 + 8,0750x	0,0228	0,42 ns	0,65 ns	94,54 a
AG.DC	2	11,0817 + 2,0440x	0,4374	13,99 **	3,74 **	94,53 a
AG.NF	2	-33,8215 + 1,0898x	0,3697	10,56 **	3,25 **	94,53 a
DC.NF	2	20,5202 + 13,5434x	0,2805	7,02 *	2,65 *	94,54 a
AG.DC.NF	2	17,9225 + 0,4696x	0,4479	14,60 **	3,82 **	94,54 a
Original	2					94,54 a
AG	3	-30,7037 + 2,9574x	0,3230	6,20 *	2,49 *	51,43 a
DC	3	-44,9889 + 80,0913x	0,6320	22,41 **	4,73 **	44,71 a
NF	3	-17,4071 + 17,8036x	0,2005	3,26 ns	1,81 ns	51,43 a
AG.DC	3	-5,6650 + 1,8073x	0,5822	18,11 **	4,26 **	51,43 a
AG.NF	3	-6,2251 + 0,5322x	0,3566	7,21 *	2,68 *	51,43 a
DC.NF	3	-14,7052 + 15,0772x	0,5622	16,69 **	4,09 **	51,43 a
AG.DC.NF	3	2,0275 + 0,3970x	0,5763	17,68 **	4,21 **	51,43 a
Original	3					51,43 a

Manipulação da Poliembrião

Os resultados comparativos dos tratamentos no transplante, ou seja na instalação do experimento, não parecem comprometer a avaliação do experimento (Tabela 11). Os tratamentos Singlet, 2-Singlet e 3-Singlet só mostraram diferenças no número de folhas. Os tratamentos Doublet e 1-Doublet, mostraram poucas diferenças (AG, DC, NF e MS), embora as plântulas tenham apresentado a mesma massa total. Os tratamentos Triplet e 1-Triplet não mostraram diferenças para nenhuma das medidas. Apesar da presença de diferenças, os valores médios foram próximos entre si e, quando ocorram diferenças, os grupos foram próximos entre si.

As plântulas Singlet apresentaram os maiores valores para as medidas, tanto aos 124 dias quanto para incremento nas medidas das plântulas (exceto para a AG, onde foi igual à Doublet), reforçando a idéia de que a presença de plântulas gemelares afeta negativamente o crescimento das mesmas. As taxas de crescimento relativo (TCR) foram iguais para AG, DC entre os tratamentos, e foram maiores para Singlet e iguais entre Doublet e Triplet para NF, NFO, e MS. A taxa de crescimento relativo para massa aérea (TCRMA) foi superior para Triplet, seguida de Doublet e Singlet e a taxa de crescimento relativo para massa total (TCRMT) foi maior nas Triplet e igual entre Doublet e Triplet. A maior TCR nas plântulas Triplet pode estar relacionada à maior TCRMA, TCRMS (taxa de crescimento relativo para massa subterrânea) e TCRMT para as plântulas menores (Figura 6). As relações demonstraram que, à medida que as plântulas aumentam de tamanho, ocorre diminuição da TCRMA ($F_{1;114} = 70,29; P < 0,0001$), da TCRMS ($F_{1;114} = 34,45; P < 0,0001$) e da TCRMT ($F_{1;114} = 22,35; P < 0,0001$).

Paras todas as medidas no transplante, 124 dias após o transplante e incremento as plântulas Doublet foram maiores que as Triplet (Tabela 12). Quanto aos tratamentos de competição, as plântulas dos tratamentos de competição intra-específica e de inibição apresentaram os maiores valores aos 124 dias, embora as plântulas gemelares somente

apresentaram valores menores para o DC, MS e MT. O incremento em tamanho foi similar entre os tratamentos, com exceção do DC e NF, onde a competição intra-específica foi menor que as demais e as plântulas gemelares produziram menor incremento para MS e MT do que os demais tratamentos. A TCR foi menor para a competição intra-específica, com exceção da MS onde a competição gemelar apresentou os mesmos valores que a competição intra-específica. A alocação de recursos foi maior para a parte aérea na competição gemelar que os demais tratamentos.

Intensidade da Competição

Os estimadores de competição não mostraram diferenças entre os tratamentos de competição para os dados aos 124 dias e para o incremento nas medidas das plântulas, com exceção da comparação entre as inclinações do tratamento de inibição de competição e de competição intra-específica, com a última mostrando maior efeito sobre o número de folhas $b = -2,26$ (Tabela 12). Para a TCR não ocorreu diferenças entre as inclinações para a competição gemelar e sua inibição. A competição intra-específica mostrou maior efeito negativo para as inclinações quando comparada à inibição da competição para AG, DC, NF, NFO e MT; e comparada à competição gemelar para a AG, DC, MA e MT (Tabela 12).

Tabela 11. Biometria de plântulas oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), submetidas a diferentes tratamentos de manipulação de competição, cultivadas por 124 dias a pleno sol em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

¹Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

Legenda: AG: altura da gema (mm), DC: diâmetro do coleto (mm), NF: número de folhas, NFO: número de folíolos, MA: massa aérea seca (mg), MS: massa subterrânea seca (mg), MT: massa total seca (mg), RMAMT: razão massa aérea /massa total, TCR: Taxa de crescimento relativo, *F*: estatística *F* de Snedecor da ANOVA, *P*: probabilidade.

Fator	Medida	Tratamentos (média ± erro padrão) ¹							<i>F</i> (<i>P</i>)
		Singlet	Doublet	Triplet	1-Doublet	1-Triplet	2-Singlet	3-Singlet	
Transplante	AG	28,94 ± 0,92 A	26,08 ± 1,03 A	21,38 ± 1,36 C	24,85 ± 0,98 B	21,48 ± 2,04 C	29,08 ± 0,80 A	28,76 ± 0,95 A	8,03 (<0,0001)
	DC	1,69 ± 0,06 A	1,23 ± 0,09 C	1,05 ± 0,08 C	1,42 ± 0,07 B	1,23 ± 0,10 C	1,88 ± 0,06 A	1,71 ± 0,06 A	17,04 (<0,0001)
	NF	4,07 ± 0,07 B	4,25 ± 0,17 A	3,83 ± 0,17 B	4,00 ± 0,00 B	3,83 ± 0,30 B	4,38 ± 0,20 A	4,80 ± 0,26 A	3,26 (0,0059)
	MA	89,54 ± 1,01 A	46,02 ± 4,56 B	28,1 ± 3,18 C	49,59 ± 3,52 B	35,29 ± 3,98 C	92,48 ± 2,31 A	95,41 ± 2,7 A	77,98 (<0,0001)
	MS	39,98 ± 1,64 A	35,15 ± 4,00 B	22,78 ± 1,24 C	29,29 ± 1,75 C	25,04 ± 2,01 C	45,23 ± 1,56 A	40,46 ± 1,63 A	13,39 (<0,0001)
	MT	132,4 ± 1,26 A	85,68 ± 9,07 B	36,79 ± 4,83 C	84,52 ± 4,75 B	45,18 ± 7,74 C	136,06 ± 2,87 A	139,7 ± 3,36 A	57,77 (<0,0001)
	RMAMT	69,28 ± 0,82 A	56,37 ± 1,84 C	52,96 ± 2,55 C	62,56 ± 1,31 B	57,58 ± 1,29 C	67,18 ± 0,74 A	70,22 ± 0,98 A	22,20 (<0,0001)
124 dias	AG	57,51 ± 2,63 A	52,84 ± 1,97 A	45,82 ± 1,67 B	53,59 ± 2,00 A	44,48 ± 3,22 B	60,79 ± 3,34 A	46,41 ± 2,25 B	6,04 (<0,0001)
	DC	3,05 ± 0,15 A	2,17 ± 0,12 C	1,72 ± 0,11 C	2,58 ± 0,08 B	1,96 ± 0,18 C	2,63 ± 0,18 B	2,12 ± 0,07 C	11,12 (<0,0001)
	NF	11,86 ± 0,61 A	10,13 ± 0,41 B	8,50 ± 0,45 C	9,87 ± 0,34 B	10,33 ± 0,61 B	10,00 ± 0,46 B	8,07 ± 0,51 C	6,48 (<0,0001)
	NFO	13,57 ± 1,04 A	10,88 ± 0,75 C	8,83 ± 0,68 B	10,73 ± 0,66 C	10,33 ± 0,61 C	11,31 ± 1,15 C	8,33 ± 0,64 B	4,12 (0,0010)
	MA	1199,79 ± 62,04 A	826,56 ± 34,37 C	706,65 ± 36,18 C	977,6 ± 41,46 B	748,78 ± 71,51 C	1018,18 ± 94,58 B	784,04 ± 39,93 C	8,56 (<0,0001)
	MS	1581,85 ± 106,84 A	975,50 ± 70,91 C	714,61 ± 79,59 D	1236,19 ± 80,31 B	1035,00 ± 92,54 C	1335,02 ± 114,92 B	901,62 ± 47,47 C	10,64 (<0,0001)
	MT	2781,64 ± 164,20 A	1802,06 ± 103,59 C	1421,26 ± 102,84 C	2213,79 ± 116,07 B	1783,78 ± 127,93 C	2353,19 ± 203,54 B	1685,66 ± 84,75 C	10,94 (<0,0001)
RMAMT	43,42 ± 0,79 B	46,49 ± 0,84 B	51,45 ± 3,59 A	44,69 ± 1,09 B	42,39 ± 3,20 B	43,44 ± 0,99 B	46,6 ± 0,64 B	2,83 (0,0142)	
Incremento	AG	28,57 ± 2,32 A	26,77 ± 1,62 A	24,43 ± 1,79 B	28,74 ± 1,63 A	22,99 ± 2,32 B	31,71 ± 3,33 A	17,65 ± 2,44 B	4,12 (0,0010)
	DC	1,36 ± 0,15 A	0,94 ± 0,09 A	0,67 ± 0,08 B	1,16 ± 0,08 A	0,73 ± 0,18 B	0,75 ± 0,16 B	0,41 ± 0,07 B	6,73 (<0,0001)
	NF	7,79 ± 0,63 A	5,88 ± 0,36 B	4,67 ± 0,50 C	5,87 ± 0,34 B	6,50 ± 0,51 B	5,63 ± 0,43 B	3,27 ± 0,51 D	9,00 (<0,0001)
	NFO	9,50 ± 1,06 A	06,63 ± 0,60 B	5,00 ± 0,71 C	6,73 ± 0,66 B	6,50 ± 0,51 B	6,94 ± 1,10 B	3,53 ± 0,60 C	5,25 (0,0001)
	MA	1110,26 ± 61,73 A	780,55 ± 30,54 C	678,55 ± 34,58 C	928,01 ± 39,42 B	713,5 ± 72,25 C	925,70 ± 94,52 B	688,63 ± 40,14 C	7,32 (<0,0001)
	MS	1541,87 ± 106,69 A	940,35 ± 69,10 B	691,82 ± 79,42 D	1206,91 ± 79,22 B	1009,96 ± 91,19 C	1289,79 ± 114,76 C	861,16 ± 47,89 C	10,47 (<0,0001)
	MT	2649,24 ± 163,79 A	1716,38 ± 96,50 C	1384,47 ± 101,47 C	2129,27 ± 113,23 B	1738,61 ± 124,77 C	2217,14 ± 203,58 B	1545,96 ± 84,52 C	10,12 (<0,0001)
TCR	AG	0,16 ± 0,01 A	0,17 ± 0,01 A	0,19 ± 0,02 A	0,19 ± 0,01 A	0,18 ± 0,02 A	0,17 ± 0,01 A	0,11 ± 0,01 B	3,80 (0,0020)
	DC	0,14 ± 0,01 A	0,14 ± 0,02 A	0,12 ± 0,02 A	0,15 ± 0,01 A	0,11 ± 0,03 A	0,08 ± 0,01 B	0,05 ± 0,01 B	6,14 (<0,0001)
	NF	0,26 ± 0,01 A	0,21 ± 0,01 B	0,19 ± 0,02 B	0,22 ± 0,01 B	0,24 ± 0,02 A	0,20 ± 0,01 B	0,12 ± 0,02 C	9,27 (<0,0001)
	NFO	0,28 ± 0,02 A	0,22 ± 0,01 B	0,20 ± 0,02 B	0,23 ± 0,01 B	0,24 ± 0,02 B	0,22 ± 0,02 B	0,13 ± 0,02 C	7,77 (<0,0001)
	MA	0,62 ± 0,01 C	0,72 ± 0,02 B	0,80 ± 0,04 A	0,73 ± 0,01 B	0,74 ± 0,05 B	0,57 ± 0,02 C	0,51 ± 0,01 D	18,91 (<0,0001)
	MS	0,89 ± 0,02 A	0,81 ± 0,02 B	0,81 ± 0,05 B	0,90 ± 0,01 A	0,90 ± 0,02 A	0,81 ± 0,02 B	0,75 ± 0,02 B	6,21 (<0,0001)
	MT	0,73 ± 0,01 B	0,75 ± 0,02 B	0,92 ± 0,05 A	0,79 ± 0,01 B	0,94 ± 0,05 A	0,68 ± 0,02 C	0,60 ± 0,01 D	20,40 (<0,0001)

Tabela 12. Efeito dos tratamentos de densidade e de tipo de competição sobre a biometria de plântulas gemelares oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) cultivadas por 124 dias a pleno sol em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

¹Médias seguidas de letras, minúsculas para densidade e maiúsculas para competição, diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott.

Legenda: AG: altura da gema (mm), DC: diâmetro do coleto (mm), NF: número de folhas, NFO: número de folíolos, MA: massa aérea seca (mg), MS: massa subterrânea seca (mg), MT: massa total seca (mg), RMAMT: razão massa aérea /massa total, TCR: Taxa de crescimento relativo, *F*: estatística *F* de Snedecor da ANOVA, *P*: probabilidade.

Fator	Medida	Tratamentos (média) ¹					<i>F</i> _{densidade} (<i>P</i>)	<i>F</i> _{competição} (<i>P</i>)	<i>F</i> _{dx c} (<i>P</i>)
		Densidade		Competição					
		2 plântulas	3 plântulas	Gemelar	Intra-específica	Inibição			
Transplante	AG	26,71 a	24,25 b	24,06 B	28,92 A	23,36 B	6,45 (0,0131)	13,65 (<0,0001)	2,48 (0,0900)
	DC	1,51 a	1,36 b	1,15 C	1,80 A	1,33 B	6,29 (0,0141)	39,55 (<0,0001)	1,17 (0,3158)
	NF	4,21 a	4,21 a	4,07 B	4,58 A	3,93 B	0,002 (0,9632)	6,00 (0,0037)	2,39 (0,0985)
	MA	62,97 a	56,20 b	38,34 B	93,90 A	43,23 B	5,65 (0,0198)	162,78 (<0,0001)	7,67 (0,0009)
	MS	36,71 a	30,28 b	29,85 B	42,92 A	27,40 B	11,08 (0,0013)	25,87 (<0,0001)	2,90 (0,0607)
	MT	102,46 a	78,95 b	64,73 B	137,82 A	67,03 B	23,68 (<0,0001)	103,26 (<0,0001)	15,11 (<0,0001)
	RMAMT	62,02 a	61,02 a	59,70 C	68,65 A	60,34 B	0,67 (0,4163)	44,03 (<0,0001)	4,57 (0,0132)
124 dias	AG	55,79 a	45,63 b	49,83 A	53,83 A	49,54 A	24,23 (<0,0001)	1,88 (0,1588)	1,63 (0,2030)
	DC	2,46 a	1,95 b	1,98 B	2,38 A	2,30 A	22,88 (<0,0001)	5,54 (0,0056)	0,88 (0,4180)
	NF	10,00 a	8,90 b	9,43 A	9,06 A	10,07 A	8,49 (0,0046)	2,44 (0,0932)	3,70 (0,0290)
	NFO	10,98 a	9,10 b	10,00 A	9,87 A	10,56 A	8,13 (0,0055)	0,40 (0,6693)	1,26 (0,2877)
	MA	940,00 a	749,38 b	775,17 A	904,88 A	875,90 A	15,59 (0,0002)	2,69 (0,0741)	0,98 (0,3788)
	MS	1181,09 a	885,12 b	863,69 B	1125,31 A	1146,77 A	18,28 (0,0001)	6,85 (0,0018)	1,58 (0,2114)
	MT	2121,09 a	1634,50 b	1638,86 B	2030,19 A	2022,68 A	19,78 (<0,0001)	5,56 (0,0054)	1,24 (0,2962)
RMAMT	44,88 a	46,80 a	48,62 A	44,97 B	43,67 B	1,66 (0,2017)	3,86 (0,0251)	2,14 (0,1240)	
Incremento	AG	29,08 a	21,38 b	25,77 A	24,91 A	26,19 A	16,22 (0,0001)	0,16 (0,8531)	3,37 (0,0394)
	DC	0,94 a	0,59 b	0,82 A	0,59 B	0,97 A	13,40 (0,0004)	5,44 (0,0061)	-0,23 (1,0000)
	NF	5,79 a	4,69 b	5,36 A	4,48 B	6,15 A	9,21 (0,0032)	7,24 (0,0013)	5,44 (0,0061)
	NFO	6,77 a	4,90 b	5,93 A	5,29 A	6,63 A	9,21 (0,0032)	1,60 (0,2078)	2,09 (0,1304)
	MA	877,02 a	693,18 b	736,83 A	810,99 A	832,67 A	14,85 (0,0002)	1,45 (0,2402)	0,96 (0,3883)
	MS	1144,38 a	854,84 b	833,84 B	1082,39 A	1119,38 A	17,79 (0,0001)	6,74 (0,0020)	1,58 (0,2121)
	MT	2018,62 a	1555,55 b	1574,13 B	1892,37 A	1955,64 A	18,48 (<0,0001)	4,73 (0,0114)	1,39 (0,2539)
TCR	AG	0,18 a	0,16 a	0,18 A	0,15 B	0,19 A	2,60 (0,1111)	4,96 (0,0093)	4,29 (0,0169)
	DC	0,12 a	0,09 b	0,13 A	0,06 B	0,13 A	5,46 (0,0220)	13,22 (<0,0001)	-0,30 (1,0000)
	NF	0,21 a	0,18 b	0,20 A	0,16 B	0,23 A	5,18 (0,0256)	11,01 (0,0001)	6,37 (0,0027)
	NFO	0,22 a	0,19 b	0,21 A	0,18 B	0,24 A	8,05 (0,0058)	7,12 (0,0014)	4,51 (0,0139)
	MA	0,67 a	0,67 a	0,75 A	0,54 B	0,73 A	0,00 (0,9932)	44,42 (<0,0001)	4,66 (0,0122)
	MS	0,84 a	0,81 a	0,81 B	0,78 B	0,90 A	1,97 (0,1645)	13,39 (<0,0001)	0,66 (0,5178)
	MT	0,74 b	0,80 a	0,82 A	0,64 B	0,86 A	8,12 (0,0056)	35,72 (<0,0001)	13,96 (<0,0001)

Tabela 13. Indicadores de intensidade de competição, obtidos a partir de regressões lineares, em função do número de plântulas por semente, para diferentes tratamentos de competição de plântulas gemelares oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae), cultivadas por 124 dias sob a pleno sol em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Legenda: R^2 : coeficiente de determinação, a : intercepto, b : inclinação, F : F de Snedecor da ANOVA, t : t de “Student”, P : probabilidade (* < 0,05; ** < 0,01; ns > 0,05).

Fator	Medida	Tipo de competição - Tratamentos incluídos												Comparação das inclinações (b)		
		Competição gemelar				Inibição de Competição				Competição intra-específica				$t (P)$	$t (P)$	$t (P)$
		R^2	a	b	$F (P)$	R^2	a	b	$F (P)$	R^2	a	b	$F (P)$	Gemelar x Inibição	Gemelar x Intra-específica	Inibição x Intra-específica
124 dias	AG	0,9866	63,65	-5,84	14,35**	0,9495	64,89	-6,52	12,62**	0,5422	66,00	-5,55	7,28**	0,11 ns	0,03 ns	0,14 ns
	DC	0,9666	3,64	-0,67	51,77**	0,9936	3,62	-0,54	31,60**	0,9967	3,53	-0,46	21,40**	0,48 ns	0,79 ns	0,28 ns
	NF	0,9997	13,51	-1,68	22,57	0,5357	12,21	-0,76	4,27*	0,9999	13,76	-1,89	26,14**	0,77 ns	0,20 ns	1,01 ns
	NFO	0,9937	15,83	-2,37	15,39**	0,8411	14,78	-1,62	8,01**	0,9937	16,31	-2,62	14,36**	0,57 ns	0,20 ns	0,79 ns
	MA	0,9192	1404,14	-246,57	56,61**	0,9999	1426,40	-225,50	30,15**	0,9947	1416,42	-207,88	17,06**	0,24 ns	0,41 ns	0,16 ns
	MS	0,9498	1957,89	-433,62	49,15**	0,9773	1831,20	-273,42	16,87**	0,9755	1953,06	-340,11	25,40**	1,20 ns	0,75 ns	0,47 ns
	MT	0,9393	3362,04	-680,19	56,12**	0,9937	3257,60	-498,93	25,90**	0,9844	3369,48	-547,99	23,06**	0,78 ns	0,60 ns	0,20 ns
	RMAMT	0,9817	39,09	4,02	8,76*	0,2004	44,53	-0,52	0,16ns	0,7539	41,31	1,59	7,28*	0,91 ns	0,50 ns	0,45 ns
Incremento	AG	0,9945	30,72	-2,06	2,27ns	0,7274	32,35	-2,79	3,55ns	0,5473	36,89	-5,46	7,66**	0,22 ns	1,21 ns	0,97 ns
	DC	0,9842	1,68	-0,35	9,28**	0,9586	1,71	-0,31	10,41**	0,9729	1,79	-0,47	23,96**	0,31 ns	1,11 ns	1,38 ns
	NF	0,9834	9,23	-1,56	19,15**	0,4322	8,00	-0,64	3,24ns	0,9994	10,08	-2,26	37,50**	1,23 ns	1,27 ns	2,34 *
	NFO	0,9749	11,54	-2,25	15,18**	0,8080	10,56	-1,50	6,99*	0,9934	12,62	-2,98	19,54**	0,85 ns	0,89 ns	1,75 ns
	MA	0,9151	1288,16	-215,85	46,67**	0,9978	1314,01	-198,38	23,71**	0,9949	1329,82	-210,81	17,56**	0,21 ns	0,08 ns	0,13 ns
	MS	0,9456	1908,05	-425,02	48,04**	0,9780	1784,81	-265,95	16,23**	0,9781	1911,64	-340,35	25,47**	1,22 ns	0,70 ns	0,54 ns
	MT	0,9300	3181,47	-632,38	50,81	0,9933	3083,01	-455,32	22,17	0,9846	3240,73	-551,64	23,41**	0,80 ns	0,40 ns	0,41 ns
TCR	AG	0,9307	0,15	0,01	2,08ns	0,6775	0,16	0,01	1,13ns	0,6036	0,20	-0,02	7,61**	0,10 ns	2,10 *	2,03 *
	DC	0,7349	0,15	-0,009	0,75ns	0,6118	0,16	-0,02	1,86ns	0,9280	0,18	-0,04	25,41**	0,43 ns	2,70 **	2,16 *
	NF	0,9348	0,28	-0,03	9,89**	0,0776	0,25	-0,006	0,36ns	0,9916	0,32	-0,07	41,37**	1,00 ns	1,56 ns	2,59 *
	NFO	0,9396	0,32	-0,04	12,18**	0,5435	0,29	-0,02	2,53ns	0,9894	0,36	-0,08	34,50**	0,82 ns	1,44 ns	2,27 *
	MA	1,0000	0,53	0,09	31,57**	0,8176	0,58	0,06	8,25**	0,9979	0,68	-0,06	30,84**	0,43 ns	2,24 *	1,77 ns
	MS	0,8063	0,91	-0,04	3,54ns	0,3995	0,88	0,006	0,25ns	0,9942	0,95	-0,07	25,20**	0,51 ns	0,32 ns	0,84 ns
	MT	0,8184	0,61	0,09	22,23**	0,9383	0,61	0,10	27,72**	0,9862	0,80	-0,07	37,10**	0,13 ns	2,09 *	2,20 *

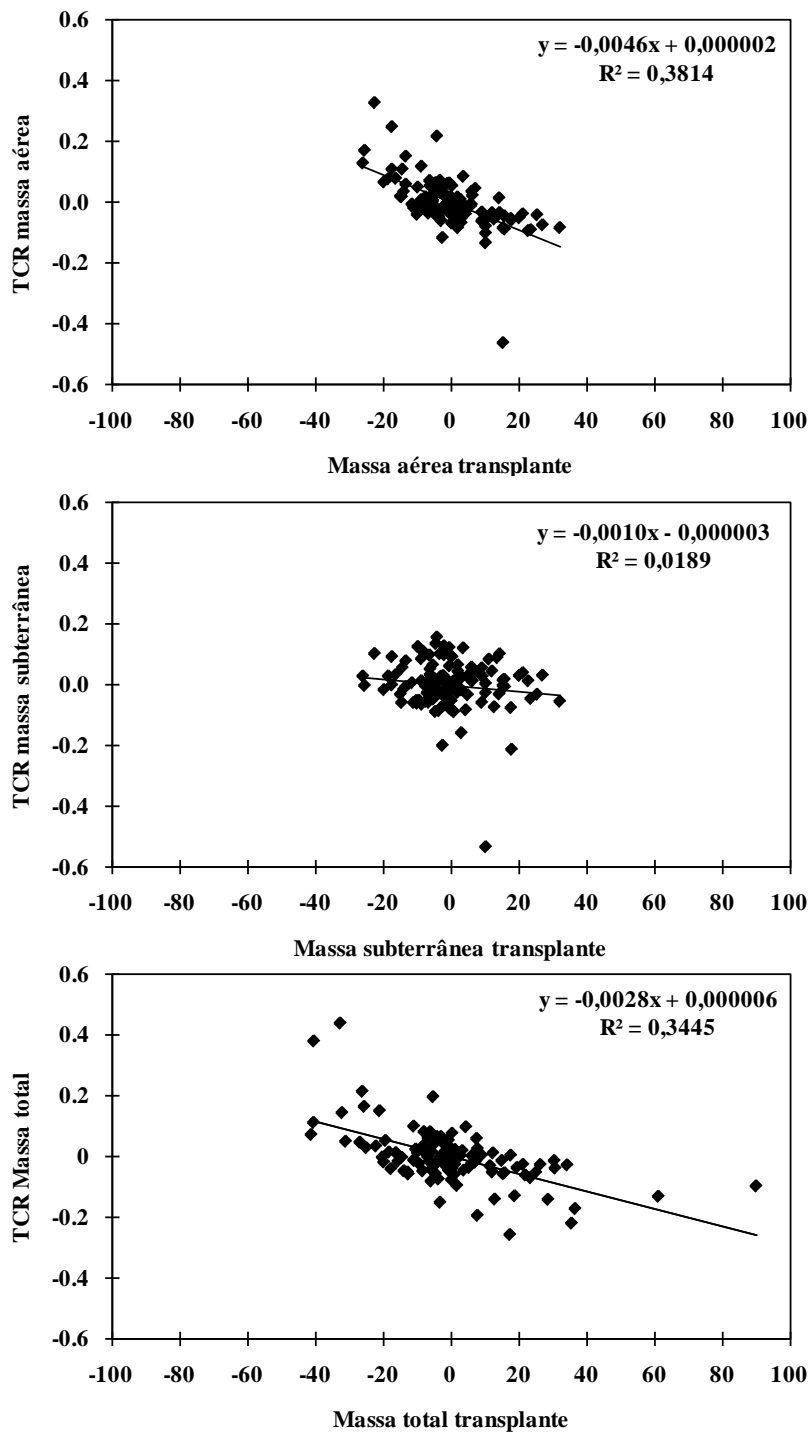


Figura 6. Relação entre a massa aérea, subterrânea e total de plântulas gemelares, com suas respectivas taxas de crescimento relativo (TCR), obtidas a partir dos resíduos, oriundas de sementes poliembriônicas de *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) coletadas em 2005 e cultivadas por 124 dias a pleno sol, no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Discussão

Germinação das sementes

As sementes da população amostrada mostraram germinabilidade alta quando comparada a outros estudos, que atingiram entre 25-87% (Fonseca *et al.* 2005; Oliveira *et al.* 2008; Martins *et al.* 2008, Martins *et al.* 2009, Santos *et al.* 2009). Tal variação na germinabilidade, encontrada por diferentes autores, pode ser explicada pelo fato de que a viabilidade das sementes de *Handroanthus chrysotrichus* pode variar em função do estado de maturação (Fonseca *et al.* 2005), temperatura e teor de água das sementes (Martins *et al.* 2009), diferenças entre indivíduos (Santos *et al.* 2009) e condições de semeadura e armazenamento (Martins *et al.* 2008, Oliveira *et al.* 2008). A germinabilidade parece não ser afetada pela poliembriõnia como em outras espécies estudadas. Em *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns (Scalon *et al.* 2003) e *Tripsacum dactyloides* L. (Tatina 1981), as sementes poliembriônicas têm maior germinabilidade que as monoembriônicas, enquanto em *Eriotheca pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott. & Endl. a germinabilidade é menor (Capítulo 5) e em *Inga laurina* (Sw.) Willd a emergência é menor (Mendes-Rodrigues *et al.* 2008). Os resultados, comparando sementes com a emergência de diferentes números de plântulas por semente de *Handroanthus chrysotrichus*, mostraram poucas diferenças, reforçando a idéia de ausência de efeito da poliembriõnia sobre a emergência das plântulas gemelares. A poliembriõnia também parece aumentar a assincronia dos processos de germinação e de emergência em outras espécies poliembriônicas (Capítulo 5; Mendes-Rodrigues *et al.* 2007; Mendes-Rodrigues *et al.* 2008).

Comparações com a germinabilidade (G) de espécies monoembriônicas de *Handroanthus* são difíceis pela adoção de métricas diferentes ou pela ausência de avaliação da poliembriõnia na população estudada. Mas os resultados encontrado aqui para *Handroanthus chrysotrichus* não são marcadamente diferentes como em *Handroanthus*

impetiginosus (Mart. ex DC.) Mattos $G = 60\%$ (Gemaque *et al.* 2002, Gemaque *et al.* 2005) ou $G = 75-86\%$ (Oliveira *et al.* 2004); *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore, $G = 94\%$ e $TMG = 2,84$ dia (Cabral *et al.* 2003) ou $G = \text{ca. } 85\%$ (Oliveira *et al.* 2006) ou ainda $G = 100\%$ (Salomão & Fujichima 2002); *Handroanthus serratifolius* $G = 92-99\%$ (Machado *et al.* 2005) ou $G = 73-80\%$ (Oliveira *et al.* 2004) ou $G = 55-99\%$ (Oliveira *et al.* 2005) ou ainda $G = 92\%$ (Santos Júnior *et al.* 2004). Aparentemente os valores de germinabilidade de *Handroanthus chrysotrichus* são comparáveis às espécies anteriormente citadas, e o TMG superior ao de *Tabebuia aurea*, mas não permitem especulações com relação à poliembrião. Ainda são necessários mais estudos com a mesma metodologia que permitam determinar se a poliembrião afeta ou não o padrão de germinação das sementes em *Handroanthus*.

Avaliação da poliembrião

A poliembrião em *Handroanthus chrysotrichus*, avaliada pelo número médio de embriões por semente (NMES) e pela percentagem de sementes poliembriônicas (PSP), mostrou variações entre os indivíduos. Variações intra-populacionais na poliembrião também foram observadas em outros grupos de plantas (Schmidt & Antlfinger 1992, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, 2008b). Diferentes fatores podem afetar o número de embriões por semente, tais como a autopolinização vs polinização cruzada (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), serviços de polinização (St. Denis & Cappuccino 2004), luminosidade (Smith *et al.* 2006), diferenças entre taxa (Domingues *et al.* 1998, Soares-Filho *et al.* 2000, DiTommaso *et al.* 2005a) e populações (DiTommaso *et al.* 2005b, Mendes-Rodrigues *et al.* 2008a), mas foi impossível testar tais fatores no âmbito do presente estudo. A percentagem de semente poliembriônicas foi muito superior a observada para *Handroanthus ochraceus* (PSP = 3%) (Salomão & Allem 2001).

A porcentagem de conversão de embriões em plântulas (*PCEP*) parece estar diretamente associada à viabilidade das sementes e ao número médio de embriões por semente. A alta *PCEP* é função inversa do número médio de embriões, ou seja, quanto menor o número de embriões por semente, maior a *PCEP*. Para *Handroanthus chrysotrichus* o menor número de embriões pode representar menos competição e embriões de maior dimensão, que podem resultar em maiores *PCEP*, como sugerido para outros grupos (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, Hotchkiss *et al.* 2008). Condições nutricionais também podem afetar a *PCEP* em *Ophiopogon japonicus* (Lf) Ker-Gawl. e *Uapaka kirkiana* Muell. Arg. (Fukai *et al.* 2000, Maliro & Kwapata 2000). Sementes com maior número de embriões maiores apresentam maior frequência de embriões atípicos e menores (Mendes-Rodrigues *et al.*, dados não publicados), o que pode diminuir a *PCEP* em *Handroanthus chrysotrichus*, levando às diferenças não significativas no *NMPS* entre indivíduos.

Massa dos Embriões

Apesar da massa embrionária por semente em *Handroanthus chrysotrichus* ter diferido entre sementes com diferentes números de embriões, essas diferenças foram significativas apenas entre as sementes com um e seis embriões por semente. Com isto a massa embrionária permanece constante, diminuindo a massa de cada embrião a medida que aumenta o número de embriões por semente. Em contraste, a massa das sementes não varia em função do número de embriões produzidos por semente em *Handroanthus chrysotrichus* e *Handroanthus ochraceus* (Mendes-Rodrigues *et al.*, dados não publicados). Esses resultados indicam alocação de recursos conservadora e homogênea na massa das sementes, de certa forma semelhante ao observado para *Vincetoxicum rossicum* (Kleopow) Barbar. (Cappuccino *et al.* 2002). Tal conservadorismo na massa total das sementes ou de embriões resulta na diminuição da massa alocada para cada embrião, como observado em *Bombacopsis glabra* (Rodrigues 2005) e *Eriotheca pubescens* (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005). A massa de sementes é uma

característica conservadora, determinada por fatores ambientais e adaptações à dispersão (Harper *et al.* 1970), não sendo afetada pelo aumento do número de embriões por semente.

Mortalidade de sementes e plântulas

A redução na massa média por embrião pode resultar em dificuldades para emergência e sobrevivência dos embriões menores e, conseqüentemente, pode ser vista como uma desvantagem para as sementes poliembriônicas. Efetivamente, a mortalidade individual de embriões foi correlacionada com o aumento do número de embriões por semente, mas a mortalidade das sementes como um todo, isto é, a chance de pelo menos uma plântula sobreviver por semente (“seed individual” *sensu* Blanchard *et al.* 2010), diminuiu com o aumento do número de plântulas por semente. Desta maneira, a poliembrionia pode ser vista como uma estratégia vantajosa para a planta-mãe, uma vez que aumenta a chance de que pelo menos uma de suas plântulas por semente possa sobreviver (‘bet hedging’ *sensu* Ladd & Cappuccino 2005).

Poliembrionia e crescimento inicial de plântulas

Além do *bet-hedging*, a poliembrionia poderia levar à germinação de mais de uma plântula por semente e favorecer processos dependentes de densidade, onde várias mudas crescendo juntas aumentam seu fitness quando comparadas àquelas crescendo isoladamente (*Allee effect sensu* Ladd & Cappuccino 2005, Hotchkiss *et al.* 2008). No caso de *Handroanthus chrysotrichus*, entretanto, esse efeito parece estar presente somente na CE2, onde ocorre aumento da massa total de plântulas produzida por semente. Com o aumento da densidade de plântulas por semente, a poliembrionia começa a ser prejudicial. Para *Vincetoxicum rossicum* o aumento do número de plântulas também leva a diminuição na massa média de plântulas, mesmo que transitório (Cappuccino *et al.* 2002, Hotchkiss *et al.* 2008), mas em *Murraya koengii*, (L.) Spreng. embriões cultivados individualmente

apresentam maior sobrevivência que quando cultivados todos juntos (Madalageri & Ramanjini 1987).

Manipulação da Poliembriõnia

Experimentos comparando o efeito da poliembriõnia sobre o desenvolvimento de plântulas são raros. Experimentos que envolvam manipulação destes efeitos são desconhecidos por nós, o que dificulta comparações com outros estudos. Os resultados com *Handroanthus chrysotricus* demonstram que ocorre compensação da diminuição do tamanho das plântulas pelo aumento da taxa de crescimento relativo (TCR) das plântulas menores. Esses resultados são corroborados tanto pelas relações de tamanho e TCR, como pelos resultados finais de crescimento e pelos índices de intensidade de competição.

Estudos com *Tripsacum dactyloides* mostram que plântulas Monoplet (uma plântula originada de uma semente monoembriônica) e a plântula maior do par Doublet têm diferenças fisiológicas entre si para o conteúdo de clorofila foliar, a e b, além dos teores de proteína e água, apesar de apresentarem poucas diferenças morfológicas. As comparações indicam que a vantagem da poliembriõnia estaria no fato da maior germinação de cariopses com poliembriõnia e na emergência de mais de uma plântula por cariopse (Tatina 1981).

Em *Handroanthus*, várias plântulas que crescem juntas podem ser todas clones da planta-mãe ou a combinação de plântulas zigóticas e clonais (Costa *et al.* 2004, Bittencourt Jr. & Moraes, 2010). Além disso, as plântulas Singlet provenientes de sementes poliembriônicas também podem ser zigóticas ou clonais, uma vez que podem resultar da competição intra-seminal entre embriões zigóticos e adventícios, com apenas um deles sobrevivendo. Muitos autores indicam que embriões adventícios apresentam crescimento mais rápido do que os sexuados, levando a geração de embriões assexuados maiores na semente madura (Baker 1960, Duncan 1970, Xiang & Roose 1988, Koltunow *et al.* 1995, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), o que poderia dar maior sucesso às plântulas assexuadas. Entretanto, estudos entre

linhas sexuais e assexuadas têm demonstrado que a capacidade de competição não é afetada pela identidade genética assexuada (Wang 1996, Kovel & Jong 2001). Apesar da predominância de plântulas clonais em espécies poliembriônicas, o que favoreceria a fixação de genótipos maternos, incluindo heterozigose (Allem 2004), a ocorrência ocasional de embriões zigóticos pode resultar no surgimento de novos genótipos nas populações essencialmente clonais (Batygina 1999, Martins & Oliveira 2003).

O experimento de manipulação permitiu mostrar que quando a competição gemelar foi inibida, as plântulas de *Handroanthus* mostraram o mesmo padrão de crescimento que aqueles sob competição intra-específica, nas mesmas densidades, e crescimento maior que aquelas em competição gemelar, embora o crescimento de plântulas gemelares individualizadas não tenha atingido o mesmo crescimento que plântulas singlet. A densidade mostrou efeitos similares aos estudos de competição intra-específica, onde o acréscimo do número de plântulas diminuiu a biometria das plântulas (Firbank & Watkinson 1985; Lentz 1999; Kovel & Jong 2001; Florentine & Fox 2003; Osunkoya *et al.* 2005). Embora a poliembrião produza plântulas menores, os dados demonstraram que plântulas menores apresentam maiores TCR que as maiores e, em caso de mortalidade das plântulas maiores, essas plântulas poderiam ocupar o espaço das maiores em menor tempo. Outros estudos de competição têm mostrado efeito contrário, onde plântulas maiores apresentam taxa de crescimento maior que as menores (Weiner & Damgaard 2006, Potvin & Dutilleul 2009). O efeito da intensidade da competição intra-específica foi maior sobre as plântulas que o efeito da competição gemelar e até mesmo da inibição da competição. As plântulas gemelares, mesmo quando crescendo sozinhas, não atingem o mesmo vigor que plântulas singlet, provavelmente pelo menor tamanho dos embriões, como observado também em *Eriotheca pubescens* (Capítulo 4).

Os dados aqui apresentados para *Handroanthus chrysotrichus* mostram que a poliembrião reduz a capacidade individual de plântulas para crescer, uma vez que reduz a massa dos embriões e de suas plântulas. No entanto, as sementes poliembriônicas têm a

vantagem de aumentar a sobrevivência de pelo menos uma plântula por semente, confirmando a presença de “bet hedging” e essa produção de plântulas gemelares aumenta a produção de biomassa por unidade de semente em algumas densidades, confirmando a presença de “allege effect”, mesmo que somente para algumas classes embriônicas. Acreditamos que a poliembrião proporciona a maior capacidade de sobrevivência das sementes e a possibilidade de manter o polimorfismo genético pela possibilidade da produção de embriões assexuados e sexuados na mesma semente. Como proposto por Allem (2004) para a apomixia, a presença de poliembrião pode representar uma alternativa reprodutiva que permite a persistência e distribuição generalizada de muitas espécies vegetais como *Handroanthus chrysotrichus* e não são simplesmente anomalias reprodutivas sem implicações ecológicas.

Agradecimentos:

A Ana Paula Caetano, Marli Aparecida Ranal, Diana Salles Sampaio, pelo auxílio na execução do trabalho; e à Denise Garcia de Santana por algumas sugestões estatísticas.

Referências Bibliográficas

- ALLEM, A.C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long-term evolutionary prospects in the Angiosperms. *The Botanical Review* 69:225-251.
- BAKER, H.G. 1960. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). *American Journal of Botany* 47:296-302.
- BATYGINA, T.B. 1999. Genetic heterogeneity of seeds. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 41:39-50.
- BATYGINA, T.B. & VINOGRADOVA, G.Y. 2007. Phenomenon of polyembryony. Genetic heterogeneity of seeds. *Russian Journal of Developmental Biology* 38:126-151.
- BITTENCOURT JR., N.S. & MORAES, C.I.G. 2010. Self-fertility and polyembryony in

- South American yellow trumpet trees (*Handroanthus chrysotrichus* and *H. ochraceus*, Bignoniaceae): a histological study of postpollination events. *Plant Systematics and Evolution* 288:59-76.
- BLANCHARD, M.L., BARNEY, J.N., AVERILL, K.M., MOHLER, C.L. & DITOMMASO, A. 2010. Does polyembryony confer a competitive advantage to the invasive perennial vine *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae)? *American Journal of Botany* 97:251-260.
- CABRAL, E.L., BARBOSA, D.C.D.A. & SIMABUKURO, E.A. 2003. Storage and germination of seeds of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. *Acta Botanica Brasilica* 17:609-617.
- CAPPUCCINO, N. 2004. Allee effect in the invasive alien plant, pale swallow-wort *Vincetoxicum rossicum* (Asclepiadaceae). *Oikos* 106:3-8.
- CAPPUCCINO, N., MACKAY, R. & EISNER, C. 2002. Spread of the invasive alien vine *Vincetoxicum rossicum*: Tradeoffs between seed dispersability and seed quality. *American Midland Naturalist* 148:263-270.
- CARMAN, J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society* 61:51-94.
- CHEPLICK, G.P. 1992. Sibling competition in plants. *Journal of Ecology* 80:567-575.
- COSTA, M.E., SAMPAIO, D.S., PAOLI, A.A.S. & LEITE, S.C.A.L. 2004. Polyembryony and aspects of embryogenesis in *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 27:395-406.
- COSTA, R.B.D., ROA, R.A.R., XAVIER, T.M. & FLORES, H.C.G. 2007. Desenvolvimento inicial de progênies de ipê amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl.) no município de Campo Grande, MS, Brasil. *Ensaio e Ciência* 11:39-45.
- DITOMMASO, A., BRAINARD, D.C. & WEBSTER, B.R. 2005. Seed characteristics of the invasive alien vine *Vincetoxicum rossicum* are affected by site, harvest date, and

- storage duration. *Canadian Journal of Botany* 83:102-110.
- DITOMMASO, A., LAWLOR, F.M. & DARBYSHIRE. 2005. The Biology of Invasive Alien Plants in Canada. 2. *Cynanchum rossicum* (Kleopow) Borhidi [= *Vincetoxicum rossicum* (Kleopow) Barbar.] and *Cynanchum louiseae* (L.) Kartesz & Gandhi [= *Vincetoxicum nigrum* (L.) Moench] *Canadian Journal of Plant Science* 85:243-263.
- DOMINGUES, E.T., TEÓFILO SOBRINHO, J., TULMANN NETO, A. & SUGAHARA, V.Y. 1998. Polyembryony in clones of 'pêra' and others sweet orange varieties. *Bragantia* 57.
- DUNCAN, E.J. 1970. Ovule and embryo ontogenesis in *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns. *Annals of Botany* 34:677-683.
- FIRBANK, L.G. & WATKINSON, A.R. 1985. On the analysis of competition within two-species mixtures of plants. *Journal of Applied Ecology* 22:517.
- FLORENTINE, S.K. & FOX, J.E.D. 2003. Competition between *Eucalyptus victrix* seedlings and grass species. *Ecological Research* 18:25-39.
- FONSECA, F.L., MENEGARIO, C., MORI, E.S. & NAKAGAWA, J. 2005. Maturidade fisiológica das sementes do ipê amarelo, *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex DC.) Standl. *Scientia Forestalis* 69:136-141.
- FUKAI, S., SHIMOMURA, T. & KONDO, T. 2000. Morphological observation of polyembryony in *Ophiopogon japonicus* (Liliaceae). *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 69:614-616.
- GEMAQUE, R.C.R., DAVIDE, A.C. & FARIA, J.M.R. 2002. Physiological maturity indicators for "ipê roxo" seeds (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.). *Cerne* 8:84-91.
- GEMAQUE, R.C.R., DAVIDE, A.C., SILVA, E.A.A.D. & FARIA, J.M.R. 2005. Effect of slow and fast drying on ipê-roxo seeds (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.). *Cerne* 11:329-335.

- GENTRY, A.H. 1992. Bignoniaceae - Part II (Tribe Tecomeae). Flora Neotropica. Monograph 25:1-370.
- GROSE, S.O. & OLMSTEAD, R.G. 2007. Taxonomic revisions in the polyphyletic genus *Tabebuia* s. l. (Bignoniaceae) Systematic Botany 32:660-670.
- HARPER, J.L., LOVELL, P.H. & MOORE, K.G. 1970. The shapes and sizes of seeds. Annual Review of Ecology and Systematics 1:327-355.
- HOTCHKISS, E.E., DITOMMASO, A., BRAINARD, D.C. & MOHLER, C.L. 2008. Survival and performance of the invasive vine *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae) from seeds of different embryo number under two light environments. American Journal of Botany 95:447-453.
- KOLTUNOW, A.M., SOLTYS, K., NITO, N. & MCCLURE, S. 1995. Anther, ovule, seed, and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. Canadian Journal of Botany 73:1567-1582.
- KOVEL, C.G.F.D. & JONG, G.D. 2001. The effect of intra-specific competition on seedlings of sexual and apomictic *Taraxacum officinale*. Oikos 95:25-30.
- LABOURIAU, L.G. 1970. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm - I. Anais da Academia Brasileira de Ciências 42:235-262.
- LABOURIAU, L.G. 1983. A Germinação das Sementes. 1th ed., Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Série de Biologia. Monografia 24, Washington.
- LADD, D. & CAPPUCCINO, N. 2005. A field study of seed dispersal and seedling performance in the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum*. Canadian Journal of Botany 83:1181-1188.
- LENTZ, K.A. 1999. Effects of intraspecific competition and nutrient supply on the endangered northeastern bulrush, *Scirpus ancistrochaetus* Schuyler (Cyperaceae). American Midland Naturalistic 142:47-54.

- MACHADO, C.F., OLIVEIRA, J.A.D., DAVIDE, A.C. & GUIMARÃES, R.M. 2002. Methodology for performing germination test of *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson Seeds. *Cerne* 8:17-25.
- MADALAGERI, B.B. & RAMANJINI, G. 1987. First report on polyembryony in curry leaf (*Murraya koengii*). *Current Science* 56:1286-1287.
- MALIRO, M.F.A. & KWAPATA, M.B. 2000. Apomictic embryo development and survival in *Uapaca kirkiana* under in vitro and in vivo seed germination. *Scientia Horticulturae* 83:139-147.
- MARTINS, R.L. & OLIVEIRA, P.E. 2003. RAPD evidence for apomixis and clonal populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). *Plant Biology* 5:338-340.
- MARTINS, C.C., MARTINELLI-SENEME, A. & NAKAGAWA, J. 2008. Estágio de colheita e substrato para o teste de germinação de sementes de ipê (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl.). *Revista Árvore* 32:27-32.
- MARTINS, L., LAGO, A.D. & SALES, W.R.M. 2009. Conservação de sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex A. DC.) standl.) em função do teor de água das sementes e da temperatura do armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes* 31:86-95.
- MENDES-DA-GLÓRIA, F.J., FILHO, F.D.A.M. & APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. 2001. Morfologia de embriões nucelares de laranja 'Valência' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Acta Botanica Brasilica* 15:17-25.
- MENDES-RODRIGUES, C., CARMO-OLIVEIRA, R., TALAVERA, S., ARISTA, M., ORTIZ, P.L. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). *Plant Biology* 7:533-540.
- MENDES-RODRIGUES, C., FERREIRA, W.R., LIMA, J.A.D., DORNELLES, M.C., RANAL, M. & SANTANA, D.G. de 2007. Germinação de embriões de duas espécies de *Inga* (Mimosaceae). *Revista Brasileira de Biociências* 5:561-563.

- MENDES-RODRIGUES, C., RANAL, M. & OLIVEIRA, P.E. 2008. Could seed dormancy and polyembryony explain the success of *Clidemia hirta* (L.) D. Don. (Melastomataceae)? , IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Embrapa Cerrados, Brasília.
- MENDES-RODRIGUES, C., RANAL, M. & SANTANA, D.G.de 2008. Seedling emergence and polyembryony in two species of *Inga* (Mimosaceae). IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Embrapa Cerrados, Brasília.
- NAUMOVA, T.N. 1992. Apomixis in Angiosperms: Nucellar and integumentary embryony. 1th ed., CRC Press, Boca Raton.
- OLIVEIRA, L.M.D., CARVALHO, M.L.M.D., GUIMARÃES, R.M. & MASETTO, T.E. 2004. Evaluation of seed quality in *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. and *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley - (Bignoniaceae) by X-ray test. *Revista Brasileira de Sementes* 26:138-143.
- OLIVEIRA, M.D.O., CARVALHO, M.L.M.D. & NERY, M.C. 2005. Tetrazolium test in *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. and *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley seeds - Bignoniaceae. *Revista Ciência Agronômica* 36:169-174.
- OLIVEIRA, A.K.M.D., SCHLEDER, E.D. & FAVERO, S. 2006. Morphological characterization, viability and vigor of *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore seeds. *Revista Árvore* 30:25-32.
- OLIVEIRA, A.K.M.D., SCHELEDER, E.J.D. & FAVERO, S. 2008. Caracterização morfológica, viabilidade e vigor de sementes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex. DC.) Standal. *Revista Árvore* 32:1011-1018.
- OSUNKOYA, O.O., OTHMAN, F.E. & KAHAR, R.S. 2005. Growth and competition between seedlings of an invasive plantation tree, *Acacia mangium*, and those of a native Borneo heath-forest species, *Melastoma beccarianum*. *Ecological Research* 20:205-214.

- PIAZZANO, M. 1998. Números cromosômicos en Bignoniaceae de Argentina. *Kurtziana* 26:179-189.
- POTVIN, C. & DUTILLEUL, P. 2009. Neighborhood effects and size-asymmetric competition in a tree plantation varying in diversity. *Ecology* 90:321-327.
- PRIMACK, R.B. 1980. Variation in the phenology of natural populations of montane shrubs in New Zealand. *Journal of Ecology* 68:849-862.
- RANAL, M.A. & SANTANA, D.G.de 2006. How and why to measure the germination process? *Revista Brasileira de Botânica* 29:1-11.
- RANAL, M.A., SANTANA, D.G.de, FERREIRA, W.R. & MENDES-RODRIGUES, C. 2009. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. *Revista Brasileira de Botânica* 32:849-855.
- RODRIGUES, C.M. 2005. Poliembryonia em espécies de Bombacoideae (Malvaceae sensu lato). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- SALOMÃO, A.N. & ALLEM, A.C. 2001. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. *Acta Botanica Brasilica* 15:369-378.
- SALOMÃO, A.N. & FUJICHIMA, A.G. 2002. Respostas de sementes de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore (Bignoniaceae) à dessecação e ao congelamento em temperaturas subzero. *Comunicado Técnico* 76:1-4.
- SAMPAIO, D.S. 2010. Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- SANTANA, D.G. & RANAL, M.A. 2006. Linear correlation in experimental design models applied to seed germination. *Seed Science and Technology* 34:233-239.
- SANTOS, F.S.D., PAULA, R.C.D., SABONARO, D.Z. & VALADARES, J. 2009. Biometria e qualidade fisiológica de sementes de diferentes matrizes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl. *Scientia Forestalis* 37:163-173.

- SANTOS JÚNIOR, N.A., BOTELHO, S.A. & DAVIDE, A.C. 2004. Study of germination and survival of three species in direct seeding system, aiming riparian forest restoration. *Cerne* 10:103-117.
- SARZI, I., BÔAS, R.L.V. & SILVA, M.R.D. 2008. Composição química e aspectos morfológicos de mudas de *Tabebuia chrysotricha* (Standl.) produzidas em diferentes substratos e soluções de fertirrigação. *Scientia Forestalis* 36:53-62.
- SCALON, S.D.P.Q., MUSSURY, R.M., RIGONI, M.R. & FILHO, H.S. 2003. Initial growth of *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns seedlings under shading conditions. *Revista Árvore* 27:753-758.
- SCHMIDT, J.M. & ANTLFINGER, A.E. 1992. The level of agamospermy in a Nebraska population of *Spiranthes cernua* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 79:501-507.
- SMITH, L.L., DITOMMASO, A., LEHMANN, J. & GREIPSSON, S. 2006. Growth and reproductive potential of the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum* in Northern New York State. *Canadian Journal of Botany* 84:1771-1780.
- SOARES FILHO, W.D.S., MOREIRA, C.D.S., CUNHA, M.A.P.D., CUNHA SOBRINHO, A.P.D. & PASSOS, O.S. 2000. Poliembrião e frequência de híbridos em *Citrus* spp. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35:857-864.
- SOUZA, L.A.D., IWAZAKI, M.C. & MOSCHETA, I.S. 2005. Morphology of the pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. (Bignoniaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48:407-418.
- ST DENIS, M. & CAPPUCINO, N. 2004. Reproductive biology of *Vincetoxicum rossicum* (Kleo.) Barb. (Asclepiadaceae), an invasive alien in Ontario. *Journal of the Torrey Botanical Society* 131:8-15.
- TATINA, R.E. 1981. The effects of polyploidy and polyembryony on the early growth and physiology of *Tripsacum dactyloides* (L.) L. (Poaceae). Ph.D. Dissertation, Graduate

School Southern Illinois University, Carbondale.

- UMA SHAANKER, R. & GANESHIAIAH, K.N. 1997. Conflict between parents and offspring in plants: predictions, processes and evolutionary consequences. *Current Science* 72:932-939.
- WANG, Y.-W. 1996. Fitness of full-sib apomictic and sexual progeny of buffelgrass. Ph.D. Dissertation, Texas A&M University, Texas.
- WEINER, J. & DAMGAARD, C. 2006. Size-asymmetric competition and size-asymmetric growth in a spatially explicit zone-of-influence model of plant competition. *Ecological Research* 21:707-712.
- XIANG, C. & ROOSE, M.L. 1988. Frequency and characteristics of nucellar and zygotic seedlings in 12 *Citrus* rootstocks. *Scientia Horticulturae* 37:47-59.

Considerações Finais

Os resultados do levantamento de poliembrionia no bioma Cerrado confirmaram a alta frequência de poliembrionia no bioma (30,30%) e reforçaram a associação de apomixia e poliembrionia já apontada na literatura (Carman 1997), principalmente nas 6,82% das espécies com elevadas porcentagens de sementes poliembrionicas (maior que 5%). A ocorrência de poliembrionia não diferiu entre as espécies autoférteis ou autoestéreis, mas apresentou porcentagens de sementes poliembrionicas menores que 5% nestas últimas. A poliembrionia mostrou outras correlações que ainda necessitam de maiores esclarecimentos, como a associação com espécies poliplóides e com o padrão de distribuição geográfica, tão ou mais amplo que nas espécies sexuais.

No levantamento de espécies poliembrionicas em Melastomataceae, uma família já conhecida pelas elevadas taxas de apomixia (Goldenberg & Shepherd 1998), há 33,96% de espécies poliembrionicas, com concentração das espécies na tribo Miconieae. Esses resultados coincidem com a alta frequência de poliembrionia no bioma Cerrado e sustentam a associação entre apomixia e poliembrionia. No entanto, a apomixia nesta família não parece estar associada com espécies com maiores frequências de sementes poliembrionicas, pois mesmo espécies com baixas porcentagens de poliembrionia apresentaram apomixia. Nas Melastomataceae, a poliembrionia também foi mais comum em espécies com amplo padrão de distribuição geográfica e, pelo menos em Miconieae, foi associada à poliploidia. Provavelmente a associação entre a porcentagem de sementes poliembrionicas e a ocorrência de apomixia encontrada nas espécies Cerrado, esteja associada a ocorrência de poliembrionia originada por apomixia esporofítica e em Melastomataceae esteja associada à origem, tanto a partir de apomixia gametofítica como esporofítica.

Estudos populacionais em *Eriotheca* mostraram a ocorrência de mosaicos reprodutivos em duas espécies. *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens* apresentaram populações monoembriônicas e poliembriônicas, com padrões ecológicos bem distintos. *Eriotheca gracilipes* apresentou populações poliembriônicas restritas, e populações monoembriônicas bem distribuídas, enquanto o contrário ocorreu em *Eriotheca pubescens*. Essas variações parecem estar associadas à ploidia e a diferenças no sistema reprodutivo das espécies, com as populações poliembriônicas apresentando hexaploidia e autofertilidade, enquanto as monoembriônicas apresentaram diploidia ou tetraploidia e autofertilidade. As espécies também apresentaram diferenças quanto à morfologia de seus frutos, incluindo diferenças entre os indivíduos monoembriônicos e poliembriônicos. Essas espécies, com poliembrionia e apomixia esporofítica, apresentaram muitas características antes associadas somente a espécies com apomixia gametofítica (Hörandl 2010).

Os dados obtidos nos dois últimos capítulos ajudam a discutir as vantagens e desvantagens da poliembrionia, mas mostraram resultados dependentes da espécie. Os dados de alocação de recursos para sementes e embriões mostraram que a massa é constante entre as sementes com diferentes números de embriões e que, à medida que o número de embriões aumenta, ocorre diminuição potencial da massa média dos embriões. Essas diferenças não tiveram efeito marcado sobre a germinabilidade das sementes e emergência, apesar dos valores terem sido significativamente menores em *Eriotheca pubescens*. A poliembrionia, no entanto, apresentou impacto direto sobre a capacidade de crescimento e sobrevivência das plântulas resultantes. Essa diminuição na alocação de massa para os embriões reflete na diminuição do tamanho das plântulas e os resultados obtidos aqui para *Eriotheca pubescens* e *Handroanthus chrysotrichus* mostraram que a poliembrionia afeta negativamente a biomassa de cada plântula. No caso de *Eriotheca pubescens*, foi possível mostrar que esse efeito é muito mais da alocação de recursos no desenvolvimento dos embriões do que da competição entre plântulas no crescimento subsequente. Vários autores acreditam que esses efeitos

possam ser transitórios ou dependentes de condições ambientais (Hotchkiss *et al.* 2008), mas nas condições experimentais aqui utilizadas, o impacto foi marcado e resultou em maior mortalidade de plântulas.

Por outro lado, a principal vantagem associada à ocorrência de mais de uma plântula por semente estaria associada ao aumento das chances de pelo menos uma delas sobreviver por semente. Esta maior sobrevivência do conjunto de plântulas formada a partir de uma semente, chamada de “seed individual” (Blanchard *et al.* 2010), foi demonstrada para *Handroanthus chrysotrichus*. A poliembrionia criaria um tipo de “bet hedging effect” onde a maior chance de cada “seed individual” sobreviver compensaria o menor tamanho de embriões e a maior mortalidade de plântulas. Os resultados aqui apresentados corroboram tal efeito.

Uma outra vantagem da poliembrionia seria o “allege effect” (Ladd & Cappuccino 2005), onde as plântulas crescendo juntas apresentariam maior sucesso devido a fatores resultantes de densidade. Os dados experimentais aqui apresentados não suportam a existência deste efeito de maneira conclusiva, mas também não mostram que crescimento conjunto de várias plântulas resulta somente em desvantagem durante o desenvolvimento.

A frequência da poliembrionia, nas espécies de Cerrado e em Melastomataceae, mostrou quanto esse fenômeno é comum e pode ser importante para a persistência e distribuição de muitas espécies de Cerrado. Apesar de afetar negativamente a capacidade de sobrevivência de plântulas a poliembrionia gera vantagens reprodutivas. Essas vantagens reprodutivas e a associação com apomixia pode permitir a ampla distribuição de genótipos e a persistência dessas espécies no bioma que está sob crescente pressão de degradação (Bridgewater *et al.* 2004, Klink & Machado 2005).

Referências Bibliográficas

- BITTENCOURT JR., N.S. & MORAES, C.I.G. 2010. Self-fertility and polyembryony in South American yellow trumpet trees (*Handroanthus chrysotrichus* and *H. ochraceus*, Bignoniaceae): a histological study of postpollination events. *Plant Systematics and Evolution* 288:59-76.
- BLANCHARD, M.L., BARNEY, J.N., AVERILL, K.M., MOHLER, C.L. & DITOMMASO, A. 2010. Does polyembryony confer a competitive advantage to the invasive perennial vine *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae)? *American Journal of Botany* 97:251-260.
- BRIDGEWATER, S., RATTER, J.A. & RIBEIRO, J.F. 2004. Biogeographic patterns, B-diversity and dominance in the cerrado biome of Brazil. *Biodiversity and Conservation* 13:2295-2318.
- CARMAN, J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society* 61:51-94.
- GOLDENBERG, R. & SHEPHERD, G.J. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. *Plant Systematics and Evolution* 211:13-29.
- HÖRANDL, E. 2010. The evolution of self-fertility in apomictic plants. *Sexual Plant Reproduction* 23:73-86.
- HOTCHKISS, E.E., DITOMMASO, A., BRAINARD, D.C. & MOHLER, C.L. 2008. Survival and performance of the invasive vine *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae) from seeds of different embryo number under two light environments. *American Journal of Botany* 95:447-453.
- KLINK, C.A. & MACHADO, R.B. 2005. Conservation of Brazilian Cerrado. *Conservation Biology*. 19:707-713.

LADD, D. & CAPPUCCINO, N. 2005. A field study of seed dispersal and seedling performance in the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum*. *Canadian Journal of Botany* 83:1181-1188.