



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



**Apomixia como estratégia reprodutiva em *Microlicia* D. Don (Microlicieae,
Melastomataceae)**

Mestrando: Matheus Lacerda Viana

Orientador: Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

Coorientadora: Dra. Ana Paula de Souza Caetano

Uberlândia - MG
2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



**Apomixia como estratégia reprodutiva em *Microlicia* D. Don (Microlicieae,
Melastomataceae)**

Mestrando: Matheus Lacerda Viana

Orientador: Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

Coorientadora: Dra. Ana Paula de Souza Caetano

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Uberlândia
como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Mestre em
Biologia Vegetal.

Uberlândia - MG
2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Biologia

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



**Apomixia como estratégia reprodutiva em *Microlicia* D. Don (Microlicieae,
Melastomataceae)**

Mestrando: Matheus Lacerda Viana

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente (Orientador):

Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

Examinadores:

Dra. Priscila Andressa Cortez

Dr. Clesnan Mendes-Rodrigues

Dissertação aprovada em: 26 / 02 / 2018

Uberlândia - MG
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

V614a Viana, Matheus Lacerda, 1992
2018 Apomixia como estratégia reprodutiva em *Microlicia* D. Don
(Microlicieae, Melastomataceae) / Matheus Lacerda Viana. - 2018.
62 f. : il.

Orientador: Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira.
Coorientadora: Ana Paula de Souza Caetano.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.724>
Inclui bibliografia.

1. Botânica - Teses. 2. Angiosperma - Reprodução - Teses. 3.
Apomixia - Teses. 4. Anormalidades meióticas - Teses. I. Oliveira, Paulo
Eugênio Alves Macedo de. II. Caetano, Ana Paula de Souza. III.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Biologia Vegetal. IV. Título.

CDU: 581

“Aos meus pais, Edimilson e Clara, pelo amor incondicional e incentivo para que esta etapa fosse concluída com sucesso, dedico”.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e saúde concedida para superar os desafios que surgiram durante esta etapa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Eugênio, pelo aceite em me orientar e por todo conhecimento compartilhado nestes dois últimos anos. Obrigado por todas as discussões e dicas sobre o mundo acadêmico. Sinto-me orgulhoso por ter participado do seu grupo de pesquisa.

A minha coorientadora Dra. Ana Paula Caetano, por ter me despertado o fascínio da anatomia reprodutiva das angiospermas, pelo conhecimento transmitido, confiança, paciência e carinho durante esta fase. Nunca irei esquecer de nossas empolgações quando observávamos algo interessante no microscópio. Além do lado científico, muito obrigado por ter sido meu ombro amigo nas horas difíceis. Enfim, grande parte desta conquista devo a você e espero que sejamos parceiros em estudos futuros.

A FAPEMIG, pela bolsa concedida para o desenvolvimento do mestrado e viagens para fins científicos.

Aos membros titulares da banca examinadora, Prof. Dr. Clesnan Mendes-Rodrigues e Dra. Priscila Andressa Cortez, pela disponibilidade em participar da defesa, pela leitura da dissertação e sugestões.

A Profa. Dra. Rosana Romero, pelo aceite em ser membro suplente da banca, disponibilidade, leitura e pela participação no trabalho.

A Profa. Dra. Juliana Mayer, que aceitou em ser membro suplente da banca. Muito obrigado pelo aceite, prontidão e disponibilidade desde o primeiro convite. Também peço desculpas por qualquer transtorno causado. Tenho a certeza que sua participação contribuiria significativamente na melhoria do trabalho.

Ao PPG em Biologia Vegetal da UFU, pelo apoio e oportunidades concedidas.

Aos professores do PPG em Biologia Vegetal e de Ecologia da UFU, em especial a Profa. Diana, Prof. Ivan, Prof. Jimi, Profa. Júlia, Profa. Lívia, Profa. Maria Cristina, Profa. Marli, Profa. Neuza, Prof. Orlando, Profa. Rosana e Prof. Vinícius, por todo conhecimento transmitido.

A Nívia, secretária do PPG em Biologia Vegetal da UFU, pela disponibilidade, ajuda e paciência.

A Marcinha, pelo apoio e zelo do Laboratório de Morfologia Vegetal e Imagens (LAMOVI) da UFU.

A UFU, pelo transporte cedido para a coleta de dados em campo.

Ao PPG em Biologia Vegetal da Unicamp, pela oferta de disciplinas que tanto contribuíram para meu crescimento profissional.

Aos meus pais, Edimilson e Clara, pelo amor, educação, incentivo e apoio aos estudos. Vocês são a base do meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu irmão Gabriel, pelo amor, amizade e companheirismo.

Ao meu namorado e melhor amigo Roberto, pelo amor, companheirismo e momentos inesquecíveis. O mestrado não seria o mesmo sem a sua presença.

Aos meus colegas e amigos de mestrado, Andressa, Annelise, Fernanda, Jean, Laurinha, Lílian, Manu, Marcinha, Mariane, Pamella, Paula, Renata e Vinícius. Nossas rodas de conversa durante os cafés da tarde tornaram o mestrado mais confortante e especial. Obrigado pela convivência, amizade e motivação! Em especial, ao meu amigo Danilo, pela grande ajuda durante a execução do trabalho e companheirismo.

A minha amiga de longa jornada, Bel, que sempre esteve ao meu lado nestes 8 anos de amizade. Obrigado pelo ombro amigo, paciência e carinho. Dividir este momento com você foi maravilhoso.

A todos os amigos que fiz no LAMOV: Bárbara, Karine, Marco Túlio, Rafael e Ruan, pela amizade, ideias e discussões ao longo do trabalho.

Ao pessoal da república de Campinas, Amanda, Ana Flávia e Pietro, pela acomodação e atenção prestada durante minha estadia para a realização das disciplinas ofertadas pela Unicamp.

Aos meus amigos Loren e Felipe, pelos momentos de alegria, conversa, cafés maravilhosos, churrascos, rodízios de sushi e tudo mais. Claro, sentirei saudades da nossa comida favorita: *stroganoff*.

As secretárias do herbário Bia e Cida, por toda ajuda, pelos cafés e momentos de descontração.

A todos aqueles que, de alguma maneira, contribuíram para a finalização deste trabalho. Esta conquista é de todos nós. Dividi-la com vocês foi glorificante. Obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO.....	3
MATERIAL E MÉTODOS.....	6
Área de estudo.....	6
Espécies estudadas.....	7
Teste de apomixia e poliembrionia.....	9
Análises embriológicas.....	9
Inviabilidade polínica.....	10
Crescimento de tubos polínicos.....	11
RESULTADOS.....	11
Teste de apomixia, poliembrionia e inviabilidade polínica.....	11
Crescimento de tubos polínicos.....	11
Estrutura da antera e desenvolvimento dos grãos de pólen.....	14
Morfologia do óvulo e desenvolvimento do saco embrionário.....	19
DISCUSSÃO.....	23
Apomixia autônoma em <i>Microlicia</i>	24
Apomixia e poliembrionia em <i>Microlicia</i>	27
Estrutura da antera e desenvolvimento dos grãos de pólen.....	29
Inviabilidade polínica em <i>Microlicia</i>	31
Estrutura do óvulo e desenvolvimento do gametófito.....	33
Apomixia facultativa e obrigatória em <i>Microlicia</i>	34
CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

RESUMO

Apomixia, reprodução assexuada a partir de sementes, é considerada como uma alternativa reprodutiva para muitas angiospermas. Em Melastomataceae, este modo de reprodução tem sido esclarecido em Miconieae, embora seja reportado em outras tribos, como Microlicieae. Assim, este estudo utilizou três espécies de *Microlicia* D. Don como modelo, *Microlicia fasciculata* Mart. ex Naudin, *Microlicia polystemma* Naudin e *Microlicia* sp. nov. a fim de (i) verificar a ocorrência de apomixia nas espécies estudadas; (ii) verificar se este modo de reprodução leva a formação de sementes poliembriônicas; (iii) investigar se as espécies apomíticas apresentam alterações durante o desenvolvimento dos grãos de pólen, com consequente esterilidade polínica, e (iv) averiguar se a apomixia pode ocorrer em paralelo ao processo sexuado no grupo. Para tal, realizamos um teste para detecção de apomixia autônoma, outro para verificar a presença de poliembrionia, análise de inviabilidade polínica, análise de crescimento de tubos polínicos e estudo da esporogênese e gametogênese por meio de técnicas utilizadas em estudos anatômicos. As três espécies são apomíticas autônomas e apresentam sementes poliembriônicas. A inviabilidade polínica foi alta em *M. fasciculata* e *M. polystemma* e total em *M. sp. nov.*, decorrente de anormalidades meióticas, mitose simétrica e atraso no desenvolvimento dos grãos de pólen. A pequena formação de grãos de pólen viáveis e possível ocorrência de polinização natural em *M. fasciculata* e *M. polystemma* permite que haja eventos de reprodução sexuada, caracterizando-as como apomíticas facultativas. Em *M. sp. nov.*, a completa esterilidade polínica e ausência de indícios de polinização natural indicam apomixia obrigatória. Apesar de apomíticas, todas as espécies retêm etapas de desenvolvimento que levou a formação de sacos embrionários reduzidos. A independência de polinizadores para formação de frutos, reprodução uniparental e sementes poliembriônicas com embriões de diferentes origens, pode conferir a tais táxons flexibilidade reprodutiva e diversidade genética.

Palavras-chave: anormalidades meióticas; apomixia autônoma; apomixia facultativa; apomixia obrigatória; inviabilidade polínica; mitose simétrica; poliembrionia.

ABSTRACT

Apomixis, asexual reproduction through seeds, is considered as a reproductive alternative for many angiosperms. In Melastomataceae, this mode of reproduction has been elucidated in Miconieae, although it is reported in other tribes, such as Microlicieae. Thus, this study used three species of *Microlicia* D. Don as model, *Microlicia fasciculata* Mart. ex Naudin, *Microlicia polystemma* Naudin and *Microlicia* sp. nov. in order to (i) verify the occurrence of apomixis in the studied species; (ii) verify if this mode of reproduction leads to the formation of polyembryonic seeds; (iii) investigate whether the apomictic species present alterations during pollen grain development, with consequent pollen sterility, and (iv) investigate whether apomixis can occur in parallel to sexual process in the studied species. For this, we performed a test to detect autonomous apomixis, other to verify the presence of polyembryony, pollen viability analysis, pollen tubes growth analysis and the study of sporogenesis and gametogenesis by techniques used in anatomical studies. The three species were autonomous apomictic and presented polyembryonic seeds. The percentage of inviable pollen grains was high in *M. fasciculata* and *M. polystemma*, and total in *M. sp. nov.*, due to meiotic abnormalities, symmetric mitosis and to the delay in the pollen development. The small formation of viable pollen grains and possible occurrence of natural pollination in *M. fasciculata* and *M. polystemma* allows sexual reproduction events, characterizing them as facultative apomictics. In *M. sp. nov.*, the complete pollen sterility and the absence of evidence of natural pollination indicate obligatory apomixis. Although apomictic, all species retain stages of development that led to the formation of reduced embryo sacs. The independence of pollinators for fruit set, unipariental reproduction and polyembryonic seeds with embryos of different origins, can confer to these taxa reproductive flexibility and genetic diversity.

Keywords: abnormal meiosis; autonomous apomixis; facultative apomixis; obligate apomixis; pollen inviability; polyembryony; symmetrical mitosis.

INTRODUÇÃO

Em angiospermas, a formação assexuada de sementes ocorre por meio da apomixia (Nogler 1984; Asker & Jerling 1992; Mogie 1992). Tal estratégia reprodutiva é derivada da reprodução sexuada e expressada por meio de alterações temporais e espaciais em etapas importantes do desenvolvimento sexual, com a eliminação ou alteração da meiose e fecundação (Carman 1997; Grimanelli *et al.* 2003; Koltunow & Grossniklaus 2003; Hand & Koltunow 2014).

Aparentemente, a apomixia é resultante de eventos de hibridação seguidos por poliploidização (Carman 1997, 2007; Koltunow & Grossniklaus 2003). Acredita-se que nos apomíticos, a presença de dois genomas que diferem nos padrões relacionados ao desenvolvimento feminino leva à expressão assíncrona dos genes duplicados envolvidos neste processo, resultando na apomixia (Carman 1997, 2007). Neste contexto, a poliploidização pode ser importante pois induz mudanças epigenéticas de regulação gênica, alterando os mecanismos que tendem a sincronizar sinais divergentes em híbridos diploides (Carman 2007). Em um contexto ecológico, a mudança para a apomixia acaba atuando como um mecanismo de escape da esterilidade em híbridos, permitindo a estabilização de linhagens híbridas poliploides (Stebbins 1950; Grant 1981; Asker & Jerling 1992).

Uma vez que a apomixia está relacionada a eventos de hibridação e poliploidia, irregularidades no processo de divisão meiótica pode reduzir a eficiência da função masculina em táxons apomíticos (Asker & Jerling 1992; van Dijk & van Damme 2000; Mogie *et al.* 2007; Hörandl *et al.* 2008). A viabilidade polínica é particularmente comprometida entre os apomíticos autônomos, que independem da polinização para formação do embrião e do endosperma (Meirmans *et al.* 2006; Thompson & Whitton 2006; Thompson *et al.* 2008; Whitton *et al.* 2008; Cortez *et al.* 2012; Caetano *et al.* 2013a,b). Por outro lado, em espécies

apomíticas pseudogâmicas, que requerem a fecundação da célula central para formação do endosperma e desenvolvimento de sementes viáveis (Asker & Jerling 1992), a dependência do gameta masculino é considerada uma pressão seletiva na manutenção da produção de grãos de pólen viáveis (Noirot *et al.* 1997). A retenção da função masculina permite a ocorrência de eventos de reprodução sexuada em populações apomíticas, levando ao aumento da diversidade genética dentro destas populações (Hörandl & Paun 2007; Whitton *et al.* 2008).

Os níveis de diversidade genética em populações apomíticas dependem também do mecanismo apomítico em questão, uma vez que os diferentes tipos de apomixia estão associados à diferentes probabilidades de produção de uma progênie sexual (Whitton *et al.* 2008; Tucker & Koltunow 2009). Na apomixia esporofítica (ou embrionia adventícia), o embrião apomítico origina-se a partir de células nucleares ou tegumentares do óvulo sem a formação de um saco embrionário (Asker & Jerling 1992; Hand & Koltunow 2014). Este mecanismo tem um potencial maior de ocorrer em paralelo com o sexual (Asker and Jerling 1992). Por outro lado, na apomixia gametofítica, o embrião se desenvolve a partir da oosfera de um saco embrionário não reduzido. Este saco embrionário pode ser derivado de uma célula-mãe de megásporos cuja meiose é suprimida ou alterada – diplosporia, ou a partir da mitose de células nucleares – aposporia (Asker & Jerling 1992; Hand & Koltunow 2014). Os mecanismos gametofíticos (diplosporia e aposporia) geralmente comprometem a formação de um saco embrionário reduzido (Koltunow *et al.* 1998; Whitton *et al.* 2008; Tucker & Koltunow 2009), mas na aposporia, há registros da ocorrência paralela de sacos embrionários apospórico e reduzido (Araujo *et al.* 2000, 2005; Caetano *et al.* 2017).

Do ponto de vista ecológico, a apomixia combina a reprodução assexuada mantendo as vantagens da reprodução por sementes, como a capacidade de dispersão e dormência (Richards 1997). Além disto, espécies apomíticas possuem vantagens em cenários de colonização, uma vez que podem se reproduzir a partir de um único indivíduo, e ainda

excluindo, muitas vezes, a necessidade da ação de polinizadores para a reprodução (Richards 1997; Hörandl 2010). Em função desta habilidade reprodutiva uniparental, associada a poliploidia e uma possível origem híbrida, tais espécies apresentam uma distribuição geográfica mais ampla quando comparada às espécies sexuadas – fenômeno conhecido como partenogênese geográfica (Baker 1967; Hörandl 2006, 2009; Hörandl *et al.* 2008; Santos *et al.* 2012). Atualmente, sugere-se que a apomixia pode ainda contribuir no processo de diversificação de algumas linhagens de angiospermas (Hojsgaard *et al.* 2014).

A apomixia já foi reportada para 78 famílias de angiospermas e, devido a sua ampla distribuição taxonômica, acredita-se que tenha surgido várias vezes independentemente na história evolutiva das plantas com flores (Hojsgaard *et al.* 2014). Mesmo assim, este processo é claramente mais frequente em determinados grupos, como Asteraceae, Poaceae e Rosaceae (Carman 1997; Naumova 2008; Hojsgaard *et al.* 2014). Entre grupos tropicais, Melastomataceae têm ganhado destaque devido ao elevado número de espécies apomíticas autônomas, principalmente dentro de Miconieae (Renner 1989; Goldenberg & Shepherd 1998; Goldenberg & Varassin 2001; Santos *et al.* 2012; Maia *et al.* 2016). Na família, estudos têm indicado que a apomixia está relacionada com a poliploidia e esterilidade polínica em variados níveis (Solt & Wurdack 1980; Goldenberg & Shepherd 1998; Goldenberg & Varassin 2001; Cortez *et al.* 2012; Caetano *et al.* 2013b). Adicionalmente, as espécies apomíticas deste grupo apresentam distribuição geográfica mais ampla em relação a seus parentes sexuais (Santos *et al.* 2012) e sementes poliembriônicas (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012; Caetano *et al.* 2017).

A poliembrionia, formação e desenvolvimento de mais de um embrião em uma única semente (Naumova 1993), é amplamente distribuída nas angiospermas (Batygina & Vinogradova 2007) e está comumente associada a apomixia, especialmente a apomíticos que apresentam embrionia adventícia (Naumova 1993; Carman 1997; Mendes-Rodrigues *et al.*

2005; Alves *et al.* 2016). Entretanto, a formação de sementes poliembriônicas também pode ocorrer em decorrência de processos sexuais (Asker & Jerling 1992; Batygina & Vinogradova 2007).

Os estudos sobre apomixia em Melastomataceae concentram-se sobretudo em Miconieae (Renner 1989; Goldenberg & Shepherd 1998; Goldenberg & Varassin 2001; Cortez *et al.* 2012; Santos *et al.* 2012; Caetano *et al.* 2013a,b; Maia *et al.* 2016; Caetano *et al.* 2017). Entretanto, apomixia também tem sido registrada em outras tribos da família (Subramanyan 1942; Renner 1989; Ramirez & Brito 1990; Melo *et al.* 1996; Souza-Silva 2000; Santos 2003; Mendoza-Cifuentes & Fernández-Alonso 2011), dentre elas Microlicieae (Santos *et al.* 2012; Maia *et al.* 2016). A tribo destaca-se por sua diversidade e distribuição relativamente restrita, com aproximadamente 220 espécies (Baumgratz *et al.* 2015a,b,c,d; Koschnitzke *et al.* 2015; Martins *et al.* 2015; Romero & Woodgyer 2015), que ocorrem principalmente no Cerrado do Brasil (Fritsch *et al.* 2004). Neste contexto, o entendimento dos processos apomíticos em Microlicieae pode ser importante para compreensão da evolução, diversidade e história de vida deste grupo.

Sendo assim, o presente estudo buscou (i) verificar a ocorrência de apomixia em três espécies de *Microlicia*, Microlicieae; (ii) verificar se este modo de reprodução leva a formação de sementes poliembriônicas; (iii) investigar se as espécies apomíticas apresentam alterações durante o desenvolvimento dos grãos de pólen, com consequente esterilidade polínica; (iv) averiguar se a apomixia pode ocorrer em paralelo ao processo sexual no grupo.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado entre novembro de 2016 e março de 2017 em uma Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) localizada no Clube Caça e Pesca Itororó (18°59'S,

48°18'W), Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. A reserva possui 127 hectares e sua vegetação é composta por três principais fitofisionomias do Cerrado, o cerrado *sensu stricto* e o campo sujo, o qual é transpassado por uma vereda (Appolinario & Schiavini 2002). Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, com estações seca e chuvosa bem definidas. A pluviosidade é de cerca de 1550 mm anuais, e temperatura média anual de 22°C (Rosa *et al.* 1991).

Espécies estudadas

As espécies utilizadas neste estudo pertencem a tribo Microlicieae, Melastomataceae, sendo elas: *Microlicia fasciculata* Mart. ex Naudin, *Microlicia polystemma* Naudin e *Microlicia* sp. nov. O material testemunha de *M. fasciculata*, *M. polystemma* e *M.* sp. nov. foi depositado no *Herbarium Uberlandense* (HUFU) sob os números: 73895, 73894 e 75715, respectivamente.

Microlicia fasciculata

Subarbustos ou arbustos, 0.2 - 0.4 m alt., eretos. Folhas sésseis, glaucas. Flores 5-meras, solitárias, axilares ou terminais, pediceladas; pétalas róseas, obovadas. Estames 10, dimórficos; estames antessépalos com anteras róseas e apêndices expandidos com base rósea e ápice amarelo, estames antepétalos com anteras amarela e apêndices truncados amarelos (Rodrigues 2005; Bacci *et al.* 2016). Ocorre nos estados do Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, Bahia, São Paulo e no Distrito Federal (Romero & Woodgyer 2015) (Fig. 1A).

Microlicia polystemma

Subarbustos ou arbustos, 0.4 - 2 m alt., eretos. Folhas sésseis, glaucas. Flores 5-meras, solitárias, axilares ou terminais, pediceladas; pétalas róseas, obovadas, ápice apiculado,

margem inteira. Estames 10, amarelos, dimórficos, anteras tetrasporangiadas, às vezes, com máculas róseas (Bacci *et al.* 2016). Estames antessépalos com anteras púrpuras e apêndices amarelos, estames antepétalos com anteras amarelas e apêndices truncados ou apenas articulado ao filete (Rodrigues 2005). *M. polystemma* distingue-se das demais espécies do gênero presentes na área de coleta, pelos estames inteiramente amarelos, às vezes com máculas róseas nas anteras e sépalas oval-triangulares com tricomas setosos e conspícuos no ápice (Bacci *et al.* 2016). Ocorre nos estados de Goiás, Minas Gerais, São Paulo e no Distrito Federal (Romero & Woodgyer 2015) (Fig. 1B).

Microlicia sp. nov. (Romero, com. pess.)

Trata-se de uma espécie nova, cuja descrição está em processo de redação por Rosana Romero e colaboradores (Fig. 1C).

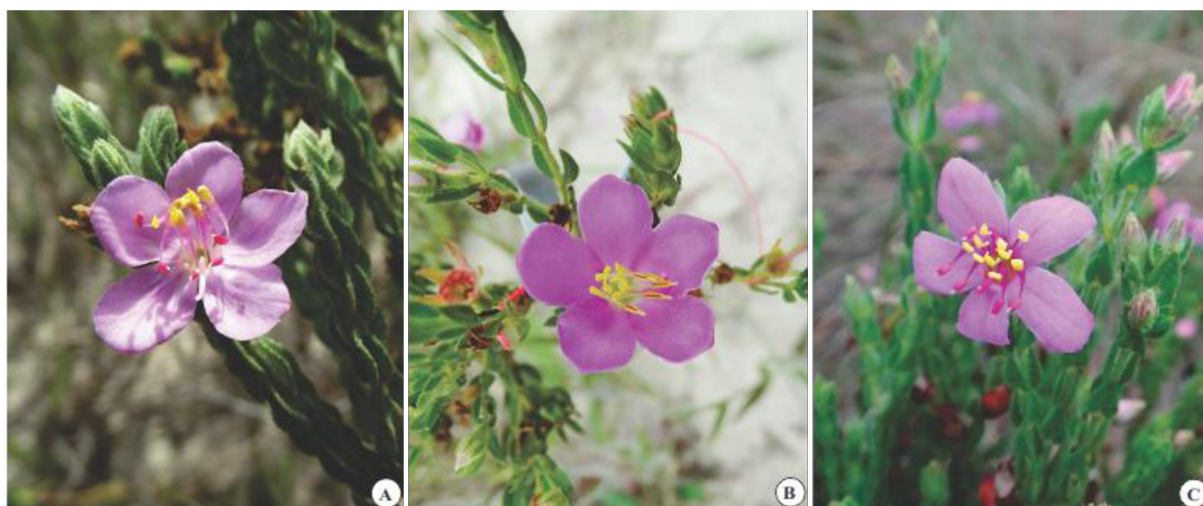


Figura 1: Morfologia floral das três espécies de *Microlicia* estudadas. A: *Microlicia fasciculata*. B: *Microlicia polystemma*. C: *Microlicia* sp. nov.

Teste de apomixia e poliembria

Apomixia autônoma foi testada em 120 botões florais de 10 indivíduos de *M. fasciculata* e *M. polystemma* e 80 botões de quatro indivíduos de *M. sp. nov.* Estames e estiletes foram extraídos de botões em pré-antese que foram marcados, isolados com sacos de organza e acompanhados periodicamente até a formação dos frutos (Goldenberg & Shepherd 1998).

A viabilidade das sementes dos frutos formados pelo tratamento de apomixia foi testada a partir da germinação de 1000 sementes por espécie, provenientes de frutos maduros de dez indivíduos de *M. fasciculata* e *M. polystemma* e quatro indivíduos de *M. sp. nov.* As sementes foram extraídas dos frutos, embebidas em solução de hipoclorito de sódio a 10% por cerca de três minutos, lavadas em água destilada e colocadas em caixas plásticas Gerbox com o fundo recoberto com algodão e papel de filtro umedecidos com solução de nistatina a 10% em água destilada. O experimento foi conduzido sob luz natural à temperatura ambiente durante 60 dias. Um acompanhamento diário foi realizado para verificar a protrusão da raiz, critério utilizado para reconhecer a germinação das sementes. Cada semente germinada foi dissecada sob estereomicroscópio para a contagem do número de embriões (Mendes-Rodrigues *et al.* 2012).

Análises embriológicas

Para análise de esporogênese, gametogênese e origem dos embriões, botões florais, flores e frutos em diferentes estágios de desenvolvimento foram coletados a partir de quatro (*M. sp. nov.*) ou cinco indivíduos (*M. fasciculata* e *M. polystemma*) de cada espécie. O material foi fixado em glutaraldeído a 1% e formaldeído a 4% em solução tampão fosfato de sódio 0.1 M, pH 7.2 por 48h (McDowell & Trump 1976) e submetido à bomba de vácuo durante este período. As amostras foram lavadas em tampão fosfato de sódio 0.1M, pH 7.2,

desidratadas em série etanólica, estocadas em etanol a 70% (v/v) e posteriormente incluídas em resina plástica (Historesin, Leica) seguindo as especificações do fabricante. Antes da inclusão, as sementes foram hidratadas em série etanólica decrescente e amolecidas em solução de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio a 30% (1:1 v/v) em estufa à 60°C por cerca de 12 horas (Ribeiro & Oliveira 2014). Em seguida, as sementes foram lavadas em água destilada e desidratadas em série etanólica para inclusão em resina plástica. Cortes transversais e longitudinais foram obtidos em micrótomo rotativo manual (RM2235, Leica), com navalha descartável de vidro ou de tungstênio, entre 3 e 5 µm de espessura. Os cortes foram corados com azul de toluidina (C.I. 52040) a 0.05% em tampão acetato de sódio e pH 4.8 (O'Brien *et al.* 1964 modificado). As lâminas produzidas foram montadas em (Entellan, Merck). Observações e fotografias digitais foram obtidas em microscópio de luz (BX51, Olympus) com câmera digital acoplada (DP70, Olympus).

Inviabilidade polínica

A inviabilidade polínica foi estimada a partir de 50 botões florais em pré-antese provenientes de 10 indivíduos de *M. fasciculata* e de *M. polystemma* e 20 botões de quatro indivíduos de *M. sp. nov.* Os botões foram fixados em solução de FAA (formalina, ácido acético e álcool etílico a 50% 1:1:18) por 48h e posteriormente estocados em álcool etílico a 70% (Johansen 1940). Em cada botão floral, as anteras de ambos os ciclos de estames (antessépalos e antepétalos) foram separadas, esmagadas e coradas com carmim acético a 2% em lâmina de vidro. Os 100 primeiros grãos de cada lâmina foram classificados quanto a corabilidade e a porcentagem de grãos de pólen inviáveis (citoplasma pouco corado ou sem conteúdo citoplasmático) foi contabilizada para cada espécie.

Crescimento de tubos polínicos

A deposição de pólen no estigma e o crescimento do tubo polínico foram utilizados como indicadores da formação de grãos de pólen viáveis e da ocorrência de polinização natural nas populações estudadas. Para cada espécie, foram analisados pistilos de 50 flores em estágio de senescência (sem pétalas), provenientes de quatro (*M. sp. nov.*) ou cinco (*M. fasciculata* e *M. polystemma*) indivíduos de cada espécie. As flores foram fixadas em solução de FAA (formalina, ácido acético e álcool etílico a 50% 1:1:18) por 48h e estocadas em etanol a 70% (Johansen 1940). Os pistilos foram diafanizados em solução de NaOH 9N, corados com azul de anilina (C.I. 42755) a 0.05% em tampão fosfato de potássio a 0.06M e pH 8.0 (Martin 1959), observados e fotografados utilizando-se um microscópio de epifluorescência (BX51, Olympus) equipado com câmera digital (DP70, Olympus).

RESULTADOS

Teste de apomixia, poliembrião e inviabilidade polínica

Houve formação de frutos com sementes viáveis a partir do tratamento de emasculação em *M. fasciculata*, *M. polystemma* e *M. sp. nov.*, indicando a ocorrência de apomixia autônoma nas três espécies investigadas (Tab. 1). Além disso, as três espécies apresentaram sementes poliembriônicas nos frutos obtidos a partir deste tratamento (Tab. 1), com a presença de até dois embriões formados em uma única semente.

A esterilidade polínica é pronunciada nas três espécies investigadas. A inviabilidade polínica nos estames antessépalos foi de 99, 99.65, e 100% em *M. fasciculata*, *M. polystemma* e *M. sp. nov.*, respectivamente. Nos estames antepétalos, a viabilidade foi de 99.16, 61 e 100% em *M. fasciculata*, *M. polystemma* e *M. sp. nov.*, respectivamente (Tab. 1).

Tabela 1. Porcentagem de frutos formados a partir do tratamento de apomixia, porcentagem de sementes germinadas de frutos provenientes deste tratamento, porcentagem de sementes apomíticas poliembriônicas germinadas e porcentagem média de grãos de pólen inviáveis em espécies de *Microlicia*, Melastomataceae. Os valores entre parênteses indicam o tamanho da amostra.

	% frutificação para apomixia (n)	% sementes germinadas (n)	% sementes apomíticas poliembriônicas (n)	% média de grãos de pólen inviáveis nos estames antessépalos e antepétalos (n)
<i>Microlicia fasciculata</i>	47,5 (120)	6,6 (1000)	28,78 (66)	99 – 99,16 (5000)
<i>Microlicia polystemma</i>	72,5 (120)	2,9 (1000)	24,13 (29)	99,65 – 61 (5000)
<i>Microlicia</i> sp. nov.	50 (80)	2,7 (1000)	11,11 (27)	100 – 100 (2000)

Crescimento de tubos polínicos

Não houve indícios de polinização em *M. sp. nov.*, uma vez que não foram observados grãos de pólen na superfície estigmática ou tubos polínicos em crescimento no estilete dos pistilos analisados. Em *M. fasciculata* e *M. polystemma*, em 12 e 22% dos pistilos analisados, respectivamente, foram observados grãos de pólen e tubos polínicos em crescimento (Figs. 1A-1C).

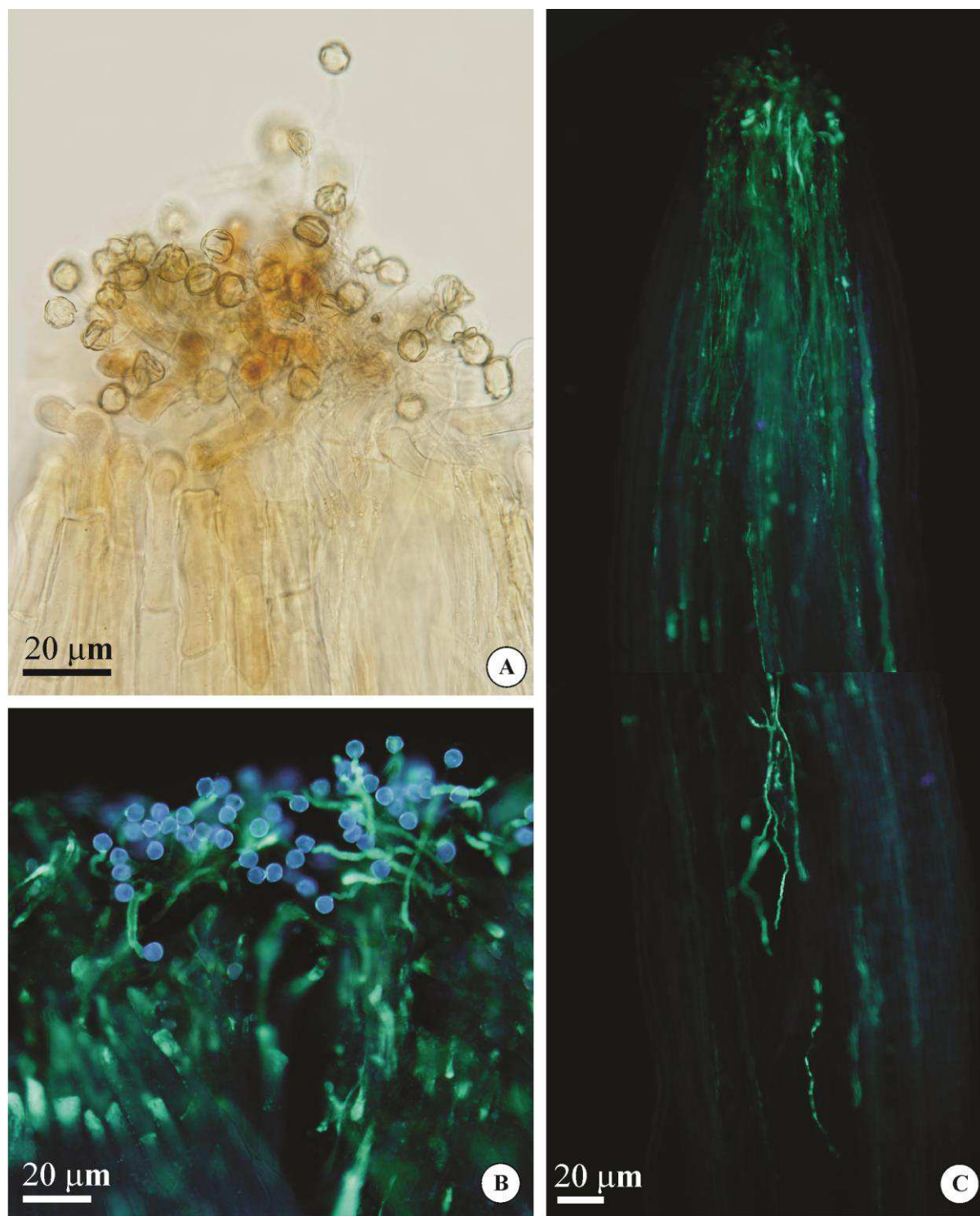


Figura 1. Deposição de grãos de pólen na superfície estigmática e crescimento de tubos polínicos em espécies apomíticas de *Microlícia*. **A:** Detalhe de grãos de pólen depositados e germinando na superfície estigmática em *M. polystemma*. **B:** Detalhe da germinação dos grãos de pólen na superfície estigmática em *M. fasciculata*. **C:** Tubos polínicos em crescimento no estilete de *M. polystemma*. A: Microscopia de luz. B – C: Microscopia de epifluorescência.

Estrutura da antera e desenvolvimento dos grãos de pólen

As anteras das três espécies estudadas são polisporangiadas, cujos microsporângios estão separados por septos parenquimáticos presentes em grande parte do desenvolvimento (Figs. 2A, 2B). No início da microsporogênese, a parede da antera é formada pela epiderme, endotécio, camada média e tapete, todos unisseriados, exceto a camada média que pode apresentar até dois estratos de células (Figs. 2C, 2D). O endotécio não desenvolve espessamentos fibrosos nas paredes de suas células e o tapete é do tipo glandular, com células uninucleadas (Figs. 2E, 2F). Ao longo da microgametogênese, as células da camada média e do tapete se desintegram, de maneira que somente a epiderme e o endotécio persistem em anteras maduras (Fig. 2F).

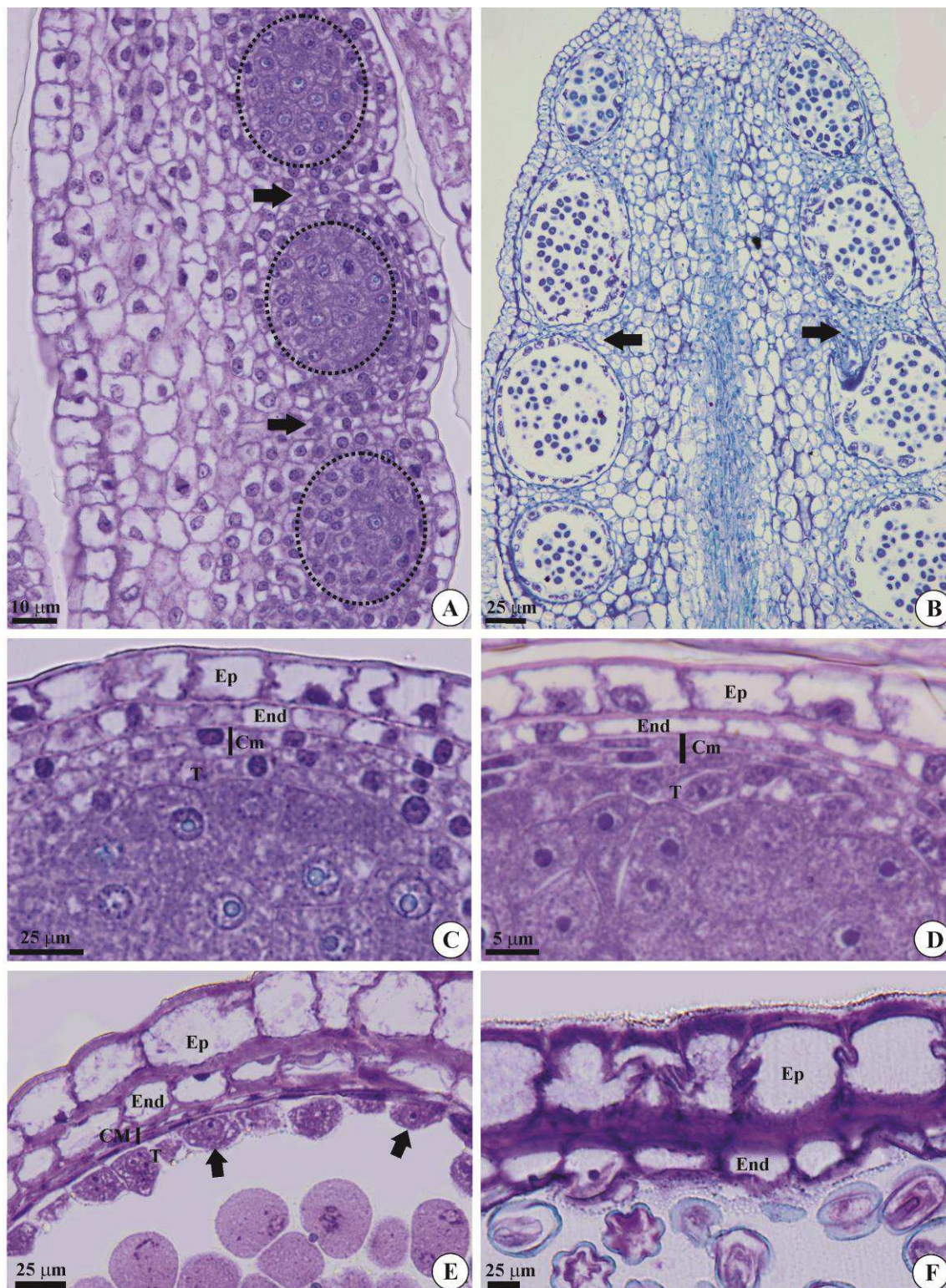


Figura 2. Morfologia da antera em espécies apomíticas de *Microlicia*. **A, B:** Cortes longitudinais de botões florais evidenciando as anteras polissporangiadas e os septos parenquimáticos (seta) em *M. polystemma* e *M. fasciculata*, respectivamente. **C, D, E:** Cortes transversais mostrando camadas parietais da antera em estágios iniciais de desenvolvimento em *M. fasciculata*, *M. polystemma* e *M. polystemma*, respectivamente. **F:** Corte transversal da antera madura mostrando a epiderme e o endotécio sem espessamentos fibrosos em suas paredes em *M. fasciculata*. Símbolos: círculos pontilhados = microsporângios, Ep = epiderme, End = endotécio, Cm = camada média, T = tapete. A-F: Microscopia de luz.

Durante a microsporogênese, células esporogênicas (Fig. 3A) localizadas no interior dos microsporângios passaram por sucessivas mitoses até se diferenciarem em células-mãe de micrósporos (Fig. 3B), envoltas por calose (Fig. 3C). A citocinese foi do tipo simultânea (Figs. 3D-3H), e levou a formação de tétrades tetraédricas de micrósporos (Figs. 3G, 3H). A parede de calose ainda circundava cada micrósporo das tétrades logo após o final da microsporogênese (Figs. 3G, 3H). Após a degradação da calose, os micrósporos foram liberados e caracterizados por um citoplasma denso e núcleo central proeminente (Figs. 3I, 3J).

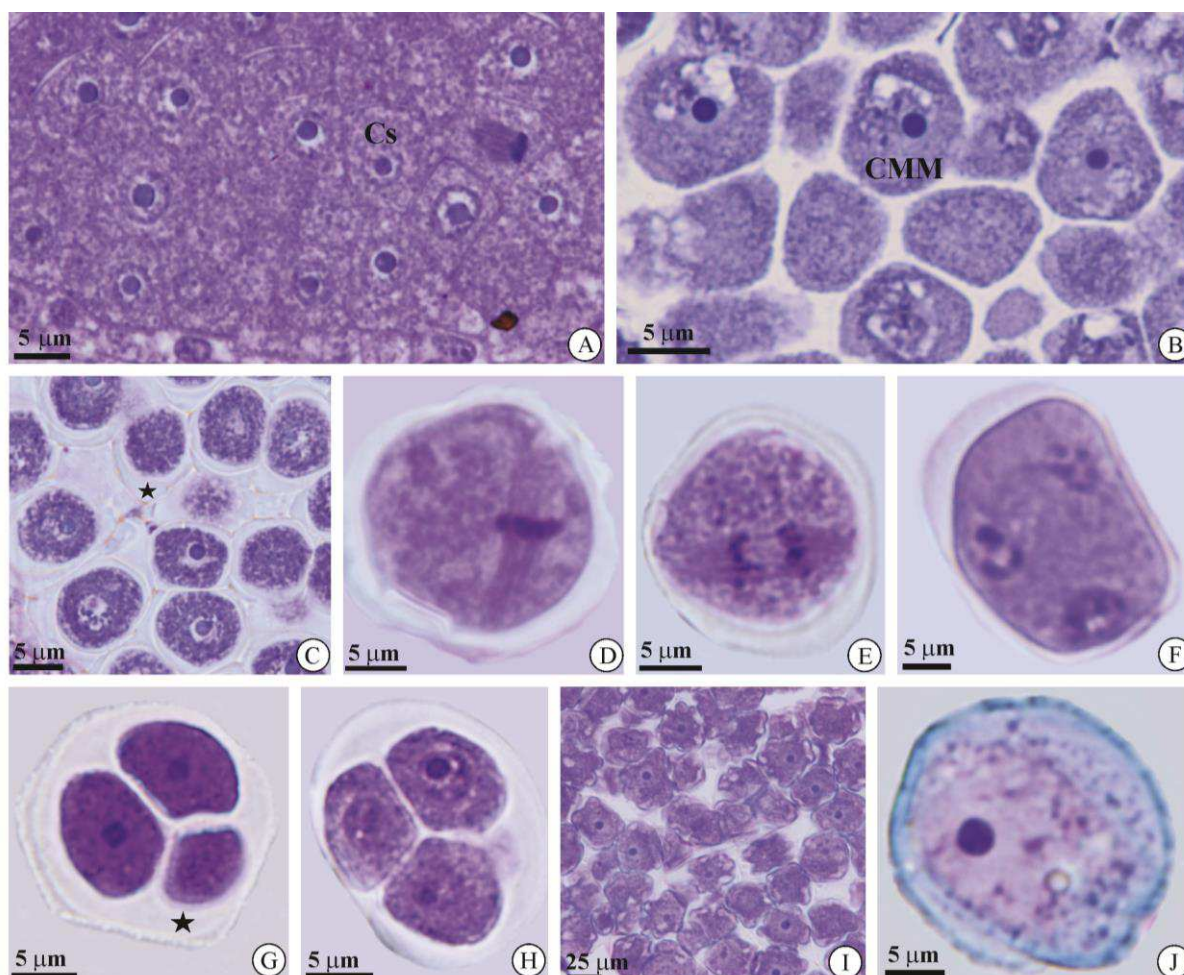


Figura 3. Microsporogênese em espécies apomíticas de *Microlicia*, Melastomataceae. **A:** Células esporogênicas em *M. polystemma*. **B:** Células-mãe de micrósporos em *M. sp. nov.* **C:** Células-mãe de micrósporos evidenciando a parede de calose em *M. fasciculata*. **D:** Metáfase II em *M. polystemma*. **E:** Anáfase II em *M. polystemma*. **F:** Telófase II em *M. sp. nov.* **G, H:** Tétrades tetraédricas de micrósporos mostrando a parede de calose em *M. sp. nov.* e *M. fasciculata*, respectivamente. **I:** Micrósporos livres já com esporoderme (exina e intina) em *M. sp. nov.* Símbolos: Cs = células esporogênicas, CMM: células-mãe de micrósporos, estrelas = calose. A-J: Microscopia de luz.

O estágio inicial da microgametogênese foi marcado pela polarização dos micrósporos por meio do desenvolvimento de um grande vacúolo, que levou a migração do núcleo para a periferia do micrósporo (Figs. 4A, 4B). É importante destacar que em *M. sp. nov.*, o processo de desenvolvimento foi abortado neste estágio, resultando em total esterilidade polínica, morfológicamente caracterizada por uma progressiva degeneração citoplasmática (Fig. 4C). Após estes eventos, em *M. fasciculata* e *M. polystemma*, os micrósporos vacuolados passaram por uma mitose assimétrica e originaram grãos de pólen formados por uma célula vegetativa e outra generativa (Figs. 4D, 4E). Foi possível observar um claro dimorfismo entre estas duas células: a célula vegetativa era maior e ocupava grande parte do grão de pólen, enquanto a célula generativa era menor e ocupava uma posição periférica no grão (Figs. 4D, 4E). Com o desenvolvimento, a célula generativa se descolou da parede do grão de pólen em direção ao interior da célula vegetativa (Figs. 4F-4J). Ao final da microgametogênese, a célula generativa adquiriu um formato fusiforme (Fig. 4J). Anteras maduras exibiram alguns grãos de pólen maduros estruturalmente normais, que foram liberados em mônades no estágio bicelular (Fig. 4J).

Diferentes anormalidades foram constatadas durante a microsporogênese e microgametogênese. A ocorrência de irregularidades meióticas foi atestada pela presença de cromossomos retardatários durante as anáfases I e II (Figs. 5A, 5B) e formação de políades de micrósporos (Figs. 5C, 5D). Em *M. polystemma* e *M. fasciculata*, observou-se a presença de uma divisão simétrica dos micrósporos, levando a formação de duas células morfológicamente semelhantes (Figs. 5E, 5F). Além disso, em todas as espécies foi observada a presença de estágios juvenis – micrósporos livres (Figs. 5G, 5H), micrósporos vacuolados (Fig. 5I) e grãos de pólen imaturos (Figs. 5J, 5K) em anteras maduras.

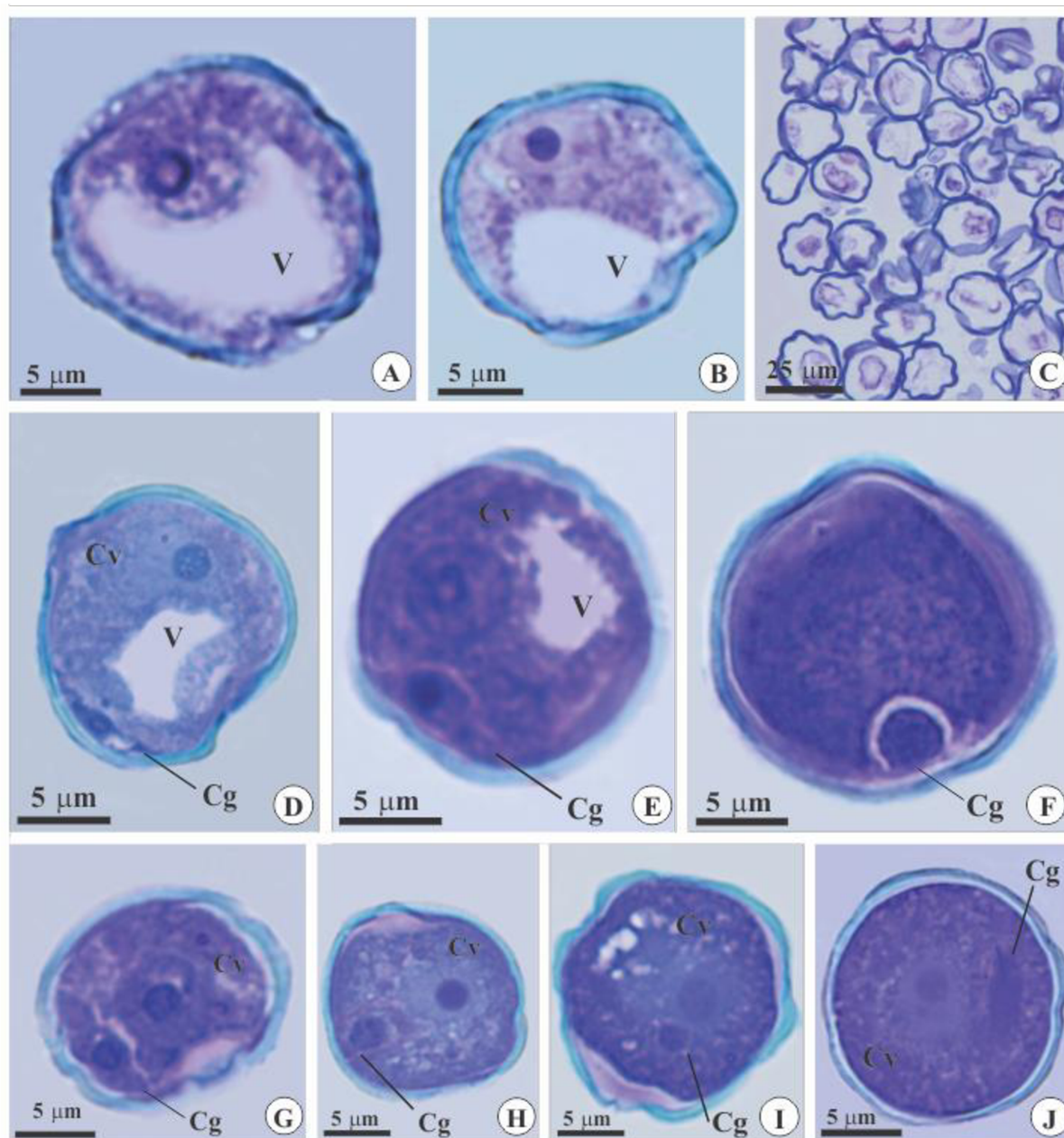


Figura 4. Microgametogênese em espécies apomíticas de *Microlizia*, Melastomataceae. **A, B:** Micrósporo vacuolado em *M. fasciculata* e *M. sp. nov.*, respectivamente. **C:** Micrósporos vacuolados em processo de degeneração citoplasmática em *M. sp. nov.* **D, E:** Grãos de pólen em estágio bicelular em *M. fasciculata*. **F, G, H:** Célula generativa deslocando-se da parede do grão de pólen em direção ao interior da célula vegetativa em *M. polystemma*, *M. fasciculata* e *M. polystemma*, respectivamente. **I:** Célula generativa no interior da célula vegetativa em *M. fasciculata*. **J:** Grão de pólen maduro mostrando a célula generativa fusiforme em *M. polystemma*. Símbolos: V = vacúolo, Cv = célula vegetativa, Cg = célula generativa. A-J: Microscopia de luz.

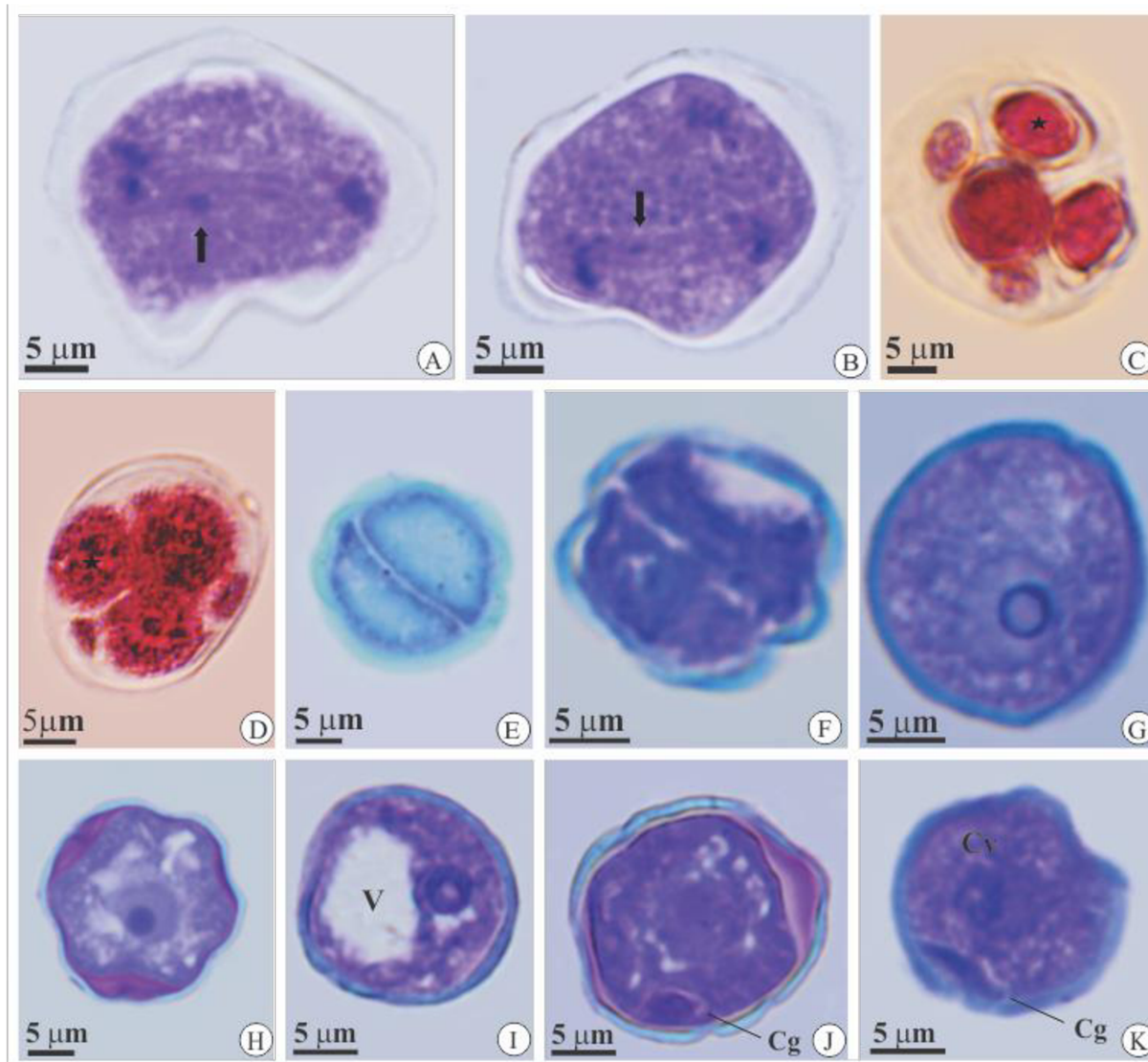


Figura 5. Anormalidade meióticas durante o desenvolvimento dos grãos de pólen em espécies apomíticas de *Microlicia*, Melastomataceae. **A:** Anáfase I com cromossomos retardatários em *M. polystemma*. **B:** Anáfase II com cromossomos retardatários em *M. sp. nov.* **C, D:** Políades de micrósporos em *M. fasciculata* e *M. polystemma*, respectivamente. **E, F:** Mitose simétrica de micrósporos em *M. polystemma* e *M. fasciculata*, respectivamente. **G – K:** Estágios juvenis do desenvolvimento dos grãos de pólen em anteras maduras. **G, H:** micrósporos não vacuolados em *M. fasciculata* e *M. polystemma*, respectivamente. **I:** micrósporo vacuolado em *M. fasciculata*. **J, K:** grãos de pólen imaturos em *M. polystemma* e *M. fasciculata*, respectivamente. Símbolos: setas = cromossomos retardatários, estrela = micrósporos, V = vacúolo, Cv = célula vegetativa, Cg = célula generativa. A-K: Microscopia de luz.

Morfologia do óvulo e desenvolvimento do saco embrionário

Os óvulos nas três espécies são morfologicamente semelhantes: anátropos, crassinucelados (Figs. 6A, 6B) e bitegumentados (Fig. 6C). Ambos os tegumentos, interno e externo, são formados por duas camadas de células (Fig. 6C) e formam uma micrópila do tipo

“zig-zag” (Fig. 6D). Divisões anticlinais na região micropilar do tegumento externo, torna-o mais espesso (Fig. 6D). A rafe apresenta um único feixe vascular que se estende do funículo até a região calazal, onde é possível observar células com citoplasma denso e núcleos proeminentes, formando uma hipóstase de células não lignificadas (Fig. 6E).

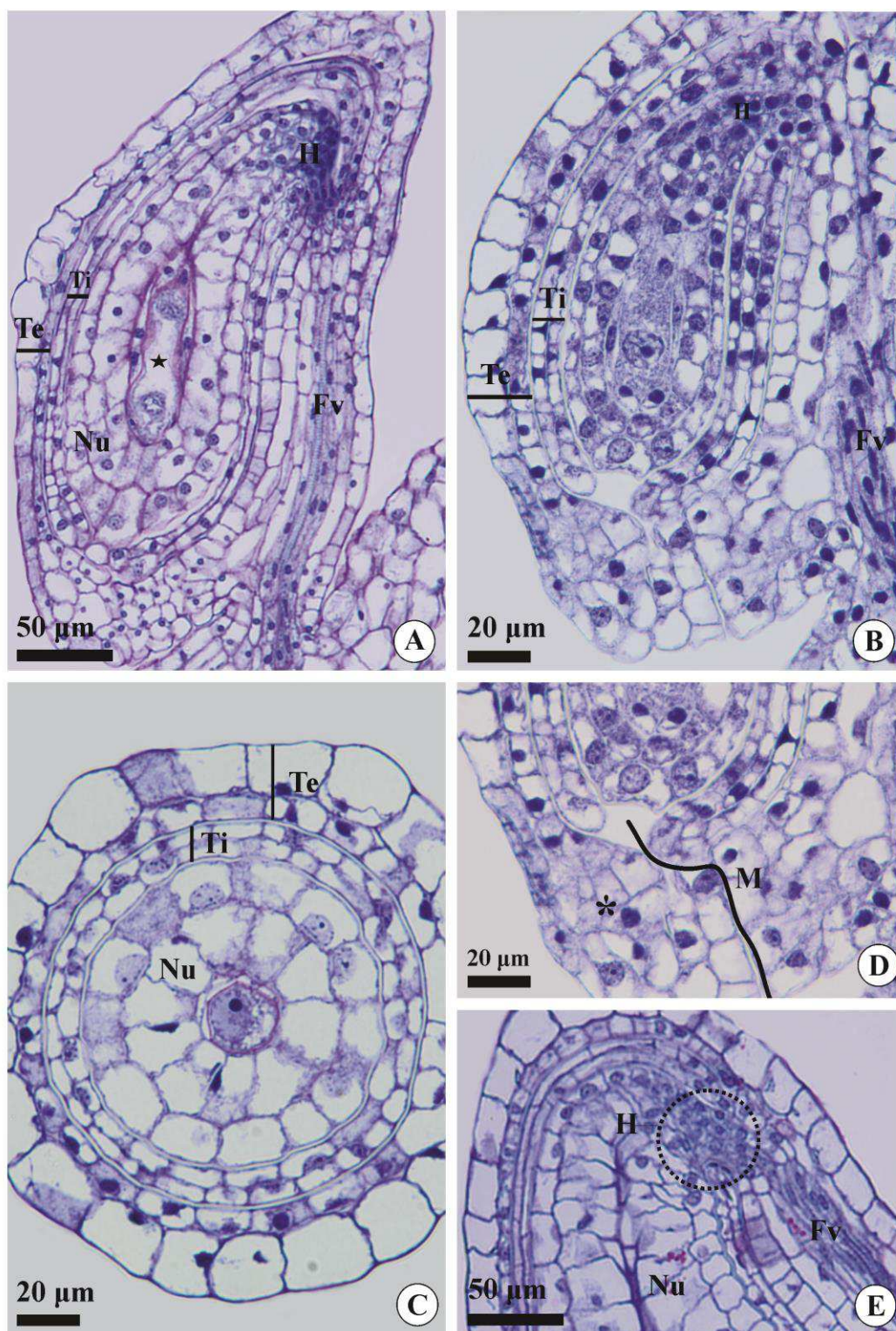


Figura 6. Morfologia do óvulo em espécies apomíticas de *Microlicia*, Melastomataceae. **A, B:** Cortes longitudinais mostrando óvulos anátropos e crassinucelados em *M. fasciculata* e *M. sp. nov.*, respectivamente. **C:** Corte transversal evidenciando os tegumentos, interno e externo, ambos bisseriados em *M. sp. nov.* **D:** Detalhe da micrópila do tipo “zig-zag”, formada pelos dois tegumentos e espessamento do tegumento externo na região micropilar em *M. sp. nov.* **E:** Detalhe do óvulo com um único feixe vascular e presença de hipóstase em *M. polystemma*. Símbolos: estrela = saco embrionário, Ti = tegumento interno, Te = tegumento externo, Nu = nucelo, H = hipóstase, Fv = feixe vascular, asterisco = tegumento externo espesso, M = micrópila. A - E: Microscopia de luz.

Eventos sexuais de desenvolvimento, com a diferenciação das células-mãe de megásporos, meiose, formação de megásporos e desenvolvimento de sacos embrionários reduzidos ocorreram de forma semelhante nas três espécies. Em cada óvulo, uma única célula esporogênica (Fig. 7A) diferencia-se em célula-mãe de megásporos, caracterizada por apresentar maior tamanho em relação às demais células nucelares, formato alongado, citoplasma denso e núcleo proeminente (Figs. 7B-7D). A célula-mãe de megásporos passa pela meiose I, dando origem a uma díade de megásporos (Figs. 7E, 7F), e pela meiose II, que originou uma tétrade linear de megásporos (Figs. 7G-7I). O megásporo funcional foi sempre o calazal (Figs. 7H, 7I), o qual passou por três séries de mitoses: a primeira deu origem a um saco embrionário binucleado (Figs. 8A, 8B), a segunda a um saco embrionário tetranucleado (Fig. 8C) e, por fim, um saco embrionário octanucleado (Fig. 8D). Após o processo de celularização, um saco embrionário do tipo *Polygonum* é formado, constituído por uma oosfera (Fig. 8E) e duas sinérgides (Fig. 8F), localizadas no polo micropilar, e uma célula central binucleada (Fig. 8G) e três antípodas, posicionadas no polo calazal do óvulo (Fig. 8H).

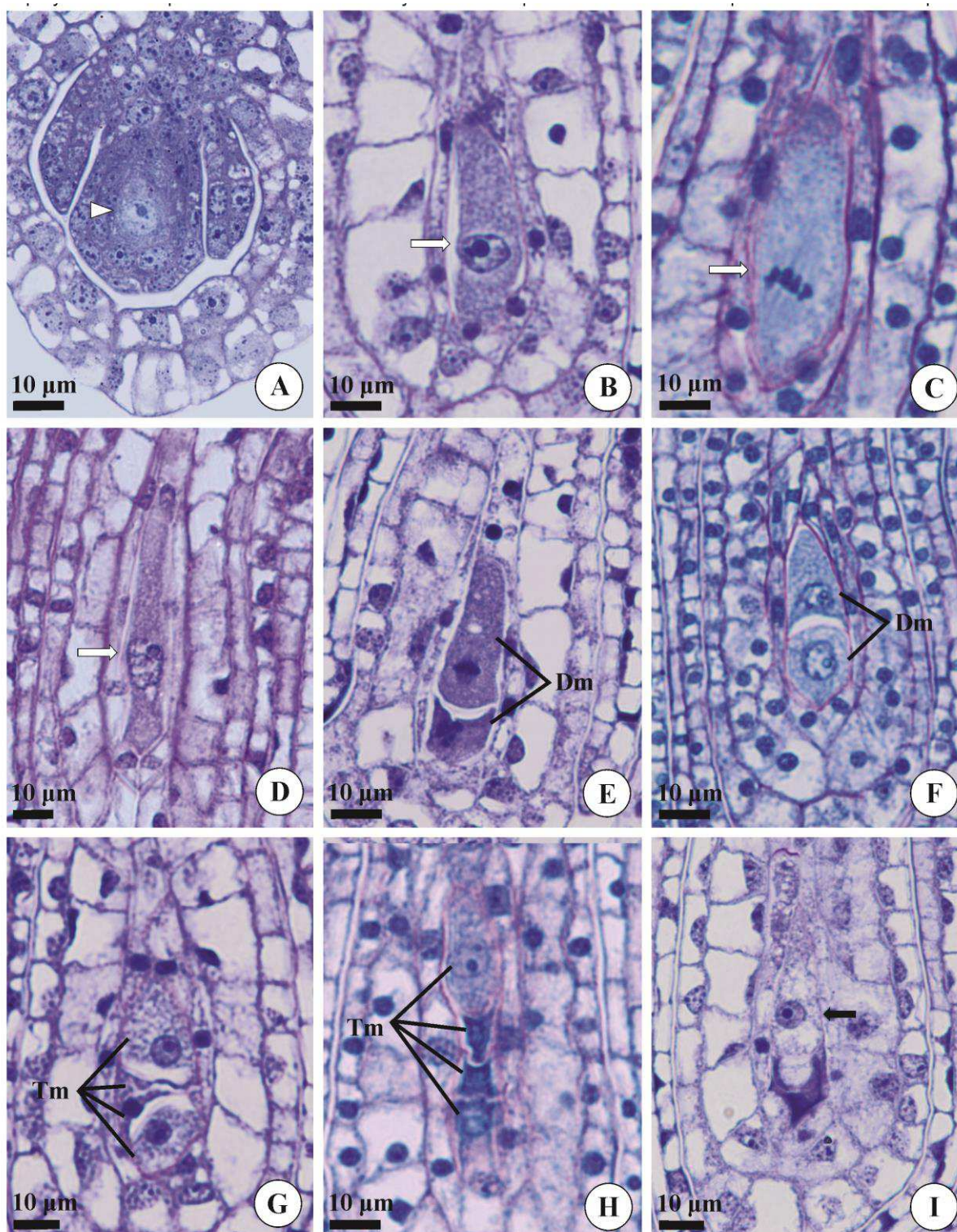


Figura 7. Megasporogênese em espécies apomíticas de *Microlicia*, Melastomataceae **A:** corte longitudinal do óvulo de *M. polystemma* mostrando uma célula esporogênica no nucelo. **B, C, D:** células-mãe de megásporos em *M. sp. nov.*, *M. fasciculata* e *M. polystemma*, respectivamente. **E, F:** díade de megásporos em *M. sp. nov.* e *M. fasciculata*, respectivamente. **G, H:** tétrade linear de megásporos em *M. sp. nov.* e *M. fasciculata*, respectivamente. **I:** megásporo calazal funcional em *M. sp. nov.* Símbolos: ponta de seta = célula esporogênica, seta branca = células-mãe de megásporos, seta preta = megásporo calazal funcional, Dm = díade de megásporo, Tm = tétrade linear de megásporos. A – I: Microscopia de luz.

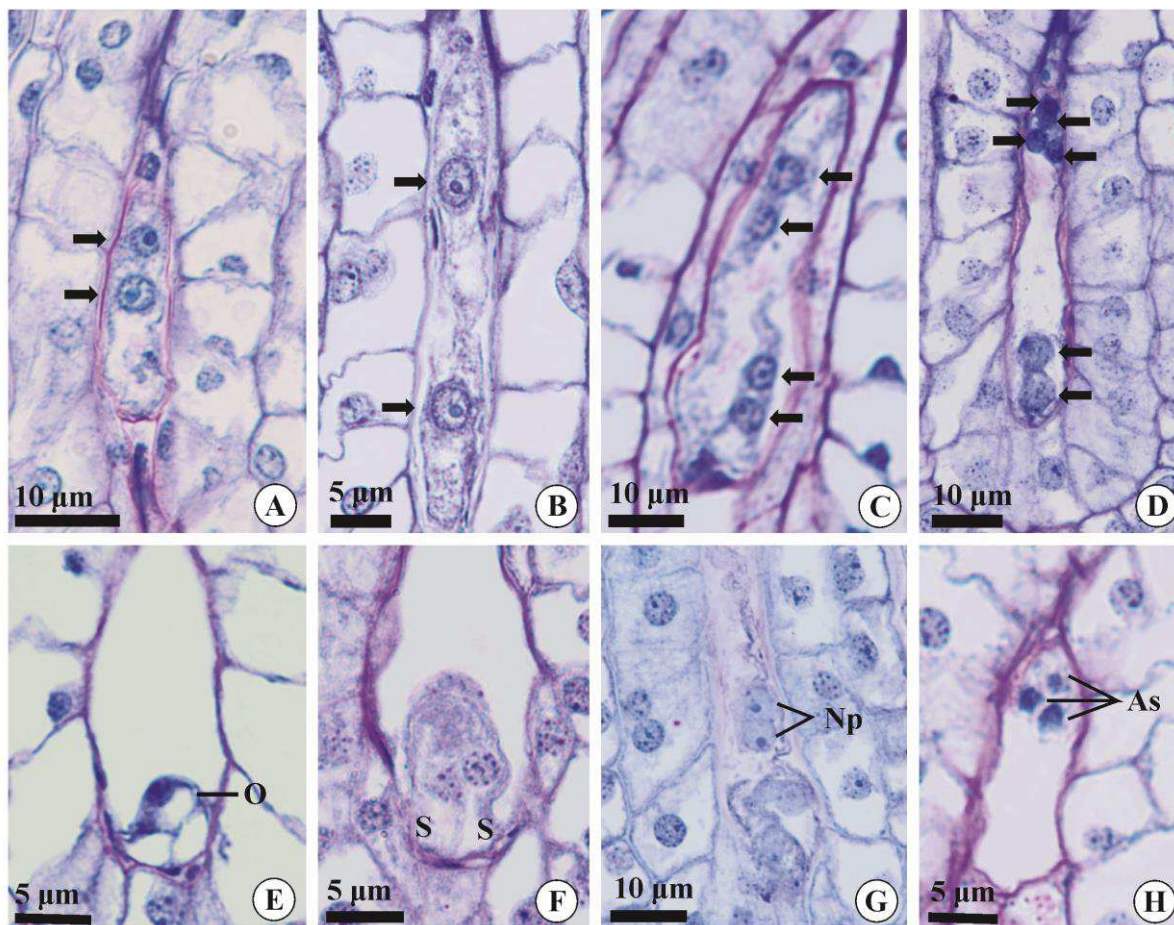


Figura 8. Megagametogênese em espécies apomíticas de *Microlícia*, Melastomataceae. **A, B:** Saco embrionário binucleado (setas). **C:** saco embrionário tetranucleado (setas) em *M. fasciculata*. **D:** saco embrionário octanucleado com quatro núcleos no polo calazal e dois núcleos no polo micropilar (setas) neste plano de corte em *M. polystemma*. **E:** saco embrionário maduro evidenciando uma oosfera em *M. sp. nov.* **F:** saco embrionário maduro evidenciando as duas sinérgides em *M. fasciculata*. **G:** Saco embrionário maduro mostrando os dois núcleos polares em *M. polystemma*. **H:** Saco embrionário maduro mostrando as antípodas em *M. sp. nov.* Símbolos: O = oosfera, S = sinérgide, Np = núcleos polares, As = antípodas. A – I: Microscopia de luz.

DISCUSSÃO

Microlícia fasciculata, *M. polystemma* e *M. sp. nov.* apresentaram evidências de apomixia, com formação autônoma de frutos com sementes viáveis, que podem ser poliembriônicas. Além disto, foi constatada a ocorrência de uma alta inviabilidade polínica, relacionada a anormalidades meióticas e alterações durante etapas chave do desenvolvimento. Apesar da apomixia, todas as espécies retêm as etapas de desenvolvimento que levam à formação de sacos embrionários reduzidos. Aliado a isto, a formação de uma certa quantidade

de grãos de pólen viáveis e a ocorrência de polinização naturais em *M. fasciculata* e *M. polystemma* devem garantir a estas espécies alguns eventos de reprodução sexuada nas populações estudadas. Por outro lado, a completa esterilidade polínica e ausência de indícios de polinizações naturais indicam apomixia obrigatória em *M. sp. nov.*

Apomixia autônoma em *Microlicia*

As espécies de *Microlicia* estudadas podem ser caracterizadas como apomíticas autônomas, uma vez que formaram frutos com sementes viáveis independente de eventos de polinização. Embora os dados de sistema reprodutivo para Microlicieae sejam limitados, eles indicam que a apomixia pode ser uma estratégia reprodutiva importante no grupo, presente em aproximadamente 31% das espécies estudadas até o momento (Tab. 2). Uma vez que a apomixia tem importantes consequências evolutivas (Hojsgaard *et al.* 2014) e ecológicas (Richards 1997, Whitton *et al.* 2008; Hörandl 2010), tal modo de reprodução deve ser considerado para a compreensão da evolução, diversidade e história de vida do grupo.

Tabela 2. Sistema reprodutivo e distribuição geográfica de espécies de Microlicieae, Melastomataceae.

Sistema reprodutivo	Espécies estudadas	Referência	Locais de ocorrência	Referência
Apomítico	<i>Lavoisiera pulchella</i> Cham.	1	MG, SP e PR	10
	<i>Microlicia fasciculata</i> Mart. ex Naudin	2 e 3	MT, GO, DF, BA, MG e SP	11
	<i>Microlicia polystemma</i> Naudin	3	GO, DF, MG e SP	11
	<i>Microlicia</i> sp. nov.	3	-	-
	<i>Microlicia serpyllifolia</i> D. Don	4	GO, DF, BA, MG	11
Sexuado	<i>Chaetostoma armatum</i> (Spreng.) Cogn.	1	BA, GO, MG, RJ, SP e PR	9
	<i>Lavoisiera crassifolia</i> Mart. & Schrank ex DC.	5	MG	10
	<i>Lavoisiera imbricata</i> (Thunb.) DC.	2	BA, GO, DF, MG, ES, RJ, SP e PR	10
	<i>Microlicia inquinans</i> Naudin	1 e 2	MG	11
	<i>Microlicia viminalis</i> (DC.) Triana	2	GO, DF, BA, MG	11
	<i>Rhynchanthera brachyrhyncha</i> Cham.	6	Brasil (MT, MG, SP, PR, SC, RS) e Paraguai	10 e 13
	<i>Rhynchanthera dichotoma</i> (Ders.) DC.	7	Brasil (AC, AM, MS, GO, DF, BA, MG, ES, RJ, SP, PR, SC, RS), Guiana, Guiana Francesa, Peru e Venezuela	10 e 13
	<i>Rhynchanthera grandiflora</i> (Aubl.) DC.	2	Brasil (AC, AM, AP, PA, RO, RR, TO, BA, CE, MA, PE, PI, DF, GO, MS, MT, MG, RJ, SP), Bolívia, Colômbia, Guianas, México, Panamá e Peru	10 e 13
	<i>Trembleya laniflora</i> (D.Don) Cogn.	8	MG	12
	<i>Trembleya neopyrenaica</i> Naudin	2	GO	12
	<i>Trembleya parviflora</i> (D.Don) Cogn.	1, 2	BA, GO, DF, MG, ES, RJ, SP, PR	12

Referências: 1. Maia *et al.* 2016; 2. Santos *et al.* 2012; 3. Neste estudo; 4. Silva *et al.* 2015; 5. Pereira 2011; 6. Brito *et al.* 2017; 7. Guimarães & Ranga 1997; 8. Soares & Morellato 2017; 9. Koschnitzke *et al.* 2015; 10. Baumgratz *et al.* 2015; 11. Romero & Woodgyer 2015; 12. Martins *et al.* 2015; 13. Renner 1990.

Estados: AC = Acre, AM = Amapá, BA = Bahia, CE = Ceará, DR = Distrito Federal, ES = Espírito Santos, GO = Goiás, MA = Maranhão, MG: Minas Gerais, MS = Mato Grosso do Sul, MT = Mato Grosso, PA = Pará, PE = Pernambuco, PI = Piauí, PR = Paraná, RJ = Rio de Janeiro, RS = Rio Grande do Sul, SP = São Paulo, TO = Tocantins.

Apomixia autônoma é apontada como um evento raro entre as angiospermas, e ocorre predominantemente em Asteraceae (Hand & Koltunow 2014), e Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998; Santos *et al.* 2012; Caetano *et al.* 2013a; Maia *et al.* 2016). Acredita-se que características relacionadas ao endosperma contribuem para a frequência de apomixia autônoma nestas famílias (Hörandl 2010; Caetano *et al.* 2017).

A apomixia autônoma pode ser especialmente vantajosa em um grupo onde a apomixia está, em geral, associada a elevados níveis de inviabilidade polínica, como em Melastomataceae. Apomíticos pseudogâmicos podem apresentar alta porcentagem de frutos abortados devido a ocorrência de grãos de pólen malformados (Izmailow 1996; Hörandl *et al.* 2008). Além disso, a segurança reprodutiva possibilitada pela independência de polinizadores pode ser vantajosa em cenários de colonização (Baker 1955, 1965). De fato, algumas espécies apomíticas autônomas da família são descritas como altamente invasoras (Peters 2001; Meyer 1996), o que certamente está relacionado com sua estratégia reprodutiva.

Historicamente, tem sido sugerido que táxons assexuados apresentam um padrão de distribuição mais amplo que seus relativos sexuados, fenômeno conhecido como partenogênese geográfica, descrito em uma variedade de organismos (Hörandl 2006, 2009). Esse padrão também tem sido demonstrado em diferentes grupos de angiospermas (Hörandl & Paun 2007; Noyes 2007). Tal sucesso de distribuição é explicado diretamente pelas vantagens da reprodução uniparental e potencial independência dos polinizadores dos apomíticos, aliada a consequências da poliploidia e possível origem híbrida desses organismos (Hörandl 2006, 2009; Whitton *et al.* 2008). Em Melastomataceae esse padrão foi comprovado, mas as informações concentram-se principalmente em Miconieae (Santos *et al.* 2012). Em Microlicieae, os

dados atuais sugerem que o fenômeno da partenogênese geográfica pode não se aplicar a tribo, uma vez que parece não haver uma tendência de distribuição geográfica mais ampla entre as espécies apomíticas (Tabela 2). Neste caso, o fruto capsular, com sementes dispersas pelo vento, assim como uma certa especialização para determinados habitats, podem ser fatores mais limitantes no padrão de distribuição do grupo.

Apomixia e poliembrionia em *Microlicia*

As espécies apresentaram formação de sementes poliembrionicas como consequência de eventos apomíticos. Embora a poliembrionia também possa ser resultante de processos sexuais, ou do desenvolvimento concomitante de embriões apomítico (s) e zigótico (Batygina & Vinogradova 2007), nas espécies investigadas, a formação assexuada de embriões pode garantir a poliembrionia. Contudo, o desenvolvimento paralelo de embriões apomíticos e sexuais em uma mesma semente não é descartado em *M. fasciculata* e *M. polystemma*, já que há uma pequena produção de grãos de pólen viáveis e tubos polínicos em crescimento.

Poliembrionia associada à apomixia tem sido observada em diferentes espécies de Melastomataceae (Renner 1989; Goldenberg & Shepherd 1998; Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012; Caetano *et al.* 2017). A poliembrionia por si não pode ser utilizada para atestar a presença de apomixia na família (Subramanyan 1944). Entretanto, uma vez que uma estreita relação entre estes dois fenômenos tem sido comprovada em diferentes tribos (Renner 1989; Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012; Caetano *et al.* 2017), parece plausível utilizar esta condição como um indício de apomixia no grupo. Neste sentido, a alta frequência poliembrionia em Melastomataceae, atestada em quase 35% das espécies já investigadas, reforça a ideia de uma possível propensão ao

surgimento e manutenção da apomixia no grupo (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012).

Apesar da sugerida competição por espaço e nutrientes que deve ocorrer nas sementes poliembriônicas de Melastomataceae (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012; Caetano *et al.* 2017), algumas vantagens deste fenômeno podem ser apontadas, entre elas, o aumento da probabilidade de pelo menos uma plântula por semente se estabelecer (Ladd & Cappuccino 2005; Hotchkiss *et al.* 2008; Mendes-Rodrigues *et al.* 2012) e o aumento do *fitness* dos indivíduos que crescem em manchas - *allee effect* (Cappuccino 2004). Além disso, a heterogeneidade genética dos embriões que podem estar presentes em sementes poliembriônicas de plantas apomíticas facultativas, como sugerimos para *M. fasciculata* e *M. polystemma*, pode ser importante como fonte de variação genética no estabelecimento de novas populações (Batygina & Vinogradova 2007).

A baixa taxa de germinação das sementes nas três espécies deste estudo parece ser uma característica relativamente comum em Melastomataceae. Em muitos casos, essa condição está relacionada a formação de sementes sem embriões (Zaia & Takaki 1998; Simão *et al.* 2007; Mendes-Rodrigues *et al.* 2010; Rodrigues & Silveira 2013; Silveira *et al.* 2013; Dayrell *et al.* 2016; Soares & Morellato 2017). Alguns autores sugerem que o desenvolvimento dessas sementes em representantes da família pode ser resultado de influências ambientais, relacionadas principalmente à baixos níveis no conteúdo de alumínio ou fósforo em solos do Cerrado e Campos Rupestres, respectivamente (Mendes-Rodrigues *et al.* 2010; Dayrell *et al.* 2016). Outra possibilidade que poderia explicar a baixa germinabilidade encontrada é a ocorrência de dormência fisiológica ou mecânica nas sementes, o que já foi relatado em representantes da família (Elisson *et al.* 1993; Baskin *et al.* 1999; Lopes *et al.* 2005;

Mendes-Rodrigues *et al.* 2010; Silveira *et al.* 2012), incluindo Microlicieae (Silveira *et al.* 2012; Ribeiro *et al.* 2015). Para as espécies estudadas, a ausência de embrião e a ocorrência de dormência, que tem sido indicada como uma condição plesiomórfica e filogeneticamente dependente em *Microlicia* (Silveira *et al.* 2012), devem contribuir para a baixa germinabilidade.

Estrutura da antera e desenvolvimento dos grãos de pólen

Foram encontradas muitas semelhanças morfológicas em relação a estrutura da antera nas três espécies estudadas, e também em alguns padrões de desenvolvimento dos grãos de pólen em *M. fasciculata* e *M. polystemma*, que conservam a função masculina na flor.

As anteras polisporangiadas observadas contrastam com a condição descrita para a maioria dos representantes de Melastomataceae, que apresentam comumente anteras tetrasporangiadas (Tobe & Raven 1983; Renner 1993; Medeiros & Ross 1996; Cortez *et al.* 2015). Anteras polisporangiadas já foram reportadas em diversas espécies de *Microlicia* (Microlicieae) (Baumgratz *et al.* 1996; Almeda & Martins 2001; Koschnitzke & Martins 2007; Almeda & Martins 2012; Lima 2013), em *Meriania* (Meranieae) (Mendoza-Cifuentes & Fernández-Alonso 2010), e em *Leandra*, *Miconia* e *Maieta* (Miconieae) (Caetano A.P.S., comunicação pessoal). A ocorrência desta condição em grupos não relacionados indica que este estado de caráter deve ter surgido múltiplas vezes dentro da família. Historicamente, características morfológicas dos estames têm sido utilizadas para fins taxonômicos em Melastomataceae (Clausing & Renner 2001; Goldenberg *et al.* 2008; Michelangeli *et al.* 2013). Um estudo da evolução deste estado de caráter na família poderia informar se o número de

esporângios pode ser utilizado na delimitação de clados, o que atestaria sua importância taxonômica.

Do ponto de vista ecológico, anteras polisporangiadas podem ter um papel importante em Melastomataceae, como um potencial mecanismo de restrição a saída do pólen. Sugere-se que as anteras septadas na família poderiam liberar gradualmente os grãos aos polinizadores, ao invés destes grãos serem totalmente removidos na primeira visita (Baumgratz *et al.* 1996). Isso pode ser uma forma importante de economia de pólen em um grupo com flores de pólen como Melastomataceae, onde os grãos são utilizados como alimento pelos polinizadores ao mesmo tempo que transporta os gametas masculinos que participam do processo de fecundação, criando um conflito evolutivo conhecido como “dilema do pólen” (Westerkamp 1996; Luo *et al.* 2008).

Outros autores acreditam que anteras polisporangiadas podem melhorar a qualidade dos grãos de pólen proporcionando melhores condições de desenvolvimento aos mesmos, uma vez que o aumento do número de esporângios amplia o contato entre o tapete e o tecido esporogênico (Pacini *et al.* 1985; Tobe & Raven 1986). Independente do seu exato papel, é interessante notar que essa condição, que representa uma provável adaptação a melhoria da função masculina na flor, seja mantida em espécies apomíticas autônomas, totalmente independentes de fecundação e com baixa viabilidade polínica.

Outra similaridade encontrada quanto à morfologia da antera inclui a condição bisseriada da camada média, característica notoriamente variável em Melastomataceae (Tobe & Raven 1983; Medeiros & Morretes 1996; Medeiros & Roos 1996; Cortez 2012; Lima 2013) e que parece estar relacionada ao tamanho da antera (Lima 2013). Outros padrões morfológicos e embriológicos registrados, tais como, endotécio sem

espessamentos parietais fibrosos, tapete do tipo glandular com células uninucleadas, citocinese do tipo simultânea, tétrades tetraédricas de micrósporos e grãos de pólen bicelulares no momento da dispersão, parecem ser condições estáveis na família (Johri *et al.* 1992; Medeiros & Morretes 1996; Medeiros & Roos 1996; Caetano *et al.* 2013a; Cortez *et al.* 2015), e que não dependem do sistema reprodutivo em questão.

Inviabilidade polínica em *Microlicia*

Registramos um marcado comprometimento na formação de grãos de pólen viáveis nas espécies estudadas de *Microlicia*. Entretanto, enquanto *M. sp. nov.* apresentou completa esterilidade polínica, *M. fasciculata* e *M. polystemma* manteve a produção de uma pequena quantidade de grãos viáveis, que foram suficientes para garantir a ocorrência de visitas e de polinizações naturais na população analisada. De fato, a visitação de flores em Melastomataceae não é afetada pela apomixia e sim pela esterilidade polínica (Maia *et al.* 2016).

A viabilidade polínica baixa ou nula registrada aqui em *Microlicia* é uma condição frequente em espécies apomíticas de Melastomataceae, que apresentam quase sempre viabilidade polínica menor em relação aos táxons com reprodução sexuada (Goldenberg & Shepherd 1998; Cortez *et al.* 2012; Caetano *et al.* 2013a,b; Maia *et al.* 2016). Até o momento, valores menores que 40% foram registrados exclusivamente entre os apomíticos (Caetano *et al.* 2013b; Maia *et al.* 2016), indicando que a inviabilidade polínica pode ser utilizada como um indicativo de apomixia no grupo. Por outro lado, a formação de uma certa quantidade de grãos viáveis em alguns apomíticos (Caetano *et al.* 2013b, Maia *et al.* 2016) demonstra que essa condição não é exclusiva a espécies sexuadas da família.

Em *M. fasciculata*, um estudo realizado em outra população apomítica também atesta uma baixa porcentagem de grãos de pólen viáveis formados (2%) (Santos *et al.* 2012). Dados similares registram baixos níveis de viabilidade polínica entre diferentes populações apomíticas de uma mesma espécie, como em *Miconia albicans* e *M. stenostachya* (Goldenberg & Shepherd 1998; Cortez *et al.* 2012; Caetano *et al.* 2013a), indicando que o severo comprometimento da função masculina em determinadas linhagens parece independe da população em questão.

A total ou alta inviabilidade polínica observada nas espécies de *Microlicia* investigadas estão associadas a irregularidades durante a meiose, além de alterações durante o desenvolvimento dos grãos de pólen, provavelmente causadas por mutações deletérias. Ambas as anormalidades também têm sido associadas a inviabilidade polínica em espécies apomíticas de *Miconieae* (Goldenberg & Shepherd 1998; Melo *et al.* 2009; Cortez *et al.* 2012; Caetano *et al.* 2013b; Caetano *et al. in prep.*).

Alterações meióticas são comuns em poliploides (Comai 2005; Mogie *et al.* 2007), e a presença de mais de dois conjuntos cromossômicos é esperada entre os apomíticos (Carman 1997, 2007). Por isso, é frequente o comprometimento da função masculina em diferentes níveis nestas espécies (Asker & Jerling 1992; Meirmans *et al.* 2006; Mogie *et al.* 2007; Whitton *et al.* 2008). Por outro lado, a associação entre o acúmulo de mutações deletérias e baixa qualidade polínica em apomíticos é recente na literatura (Caetano *et al. in prep.*).

Mutações podem estar associadas às diferentes alterações observadas durante o desenvolvimento dos grãos de pólen, levando a divisão simétrica de micrósporos e a presença de micrósporos em anteras maduras, causadas pelo atraso no desenvolvimento dos grãos de pólen. A divisão simétrica em micrósporos pode ocorrer em consequência de uma mutação em algum dos genes responsáveis pela formação

dos microtúbulos e suas proteínas associadas, afetando a polaridade do micrósporo e impedindo a divisão celular assimétrica, fundamental para a diferenciação da célula generativa (Twell *et al.* 1998; Park *et al.* 2004; Borg & Twell 2011). Por outro lado, mutantes que falham na primeira divisão mitótica, resultando na formação de “grãos de pólen unicelulares” (referidos neste estudo como micrósporos), também são registrados na literatura (Twell & Howden 1998). Por último, o atraso no desenvolvimento dos grãos de pólen pode ser causado por uma mutação em genes que controlam os estágios finais da microgametogênese (Han *et al.* 2006). O acúmulo de mutações deletérias tem sido registrado em linhagens apomíticas (Hollister *et al.* 2014; Lovell *et al.* 2017). Especialmente em apomíticas autônomas, que independem do pólen para formação do embrião e endosperma, como ocorre em Melastomataceae, mutações na função masculina podem se acumular nas populações, sem necessariamente afetar seu fitness.

Estrutura do óvulo e desenvolvimento do gametófito

As características estruturais dos óvulos de *M. fasciculata*, *M. polystemma* e *M.* sp. nov. foram semelhantes. A ocorrência de dois tegumentos não vascularizados, sendo o interno bisseriado, óvulos crassinucelados, micrópila do tipo “zig-zag” e hipóstase com células não lignificadas são características estáveis dentro de Melastomataceae (Tobe & Raven 1983; Medeiros & Morretes 1996; Cortez & Carmello-Guerreiro 2008; Caetano *et al.* 2013a; Ribeiro *et al.* 2015; Caetano *et al.* 2017). Embora a curvatura do óvulo e a espessura do tegumento externo nas três espécies aqui estudadas tenham sido semelhantes, tais caracteres são variáveis na família (Tobe & Raven 1983; Medeiros & Morretes 1996; Cortez & Carmello-

Guerreiro 2008; Caetano *et al.* 2013a; Ribeiro *et al.* 2015), sendo a espessura do tegumento externo de importância taxonômica (Caetano *et al.* 2018).

As características embriológicas relacionadas com a megasporogênese e megagametogênese, como a formação de tétrades lineares de megásporos com o megásporo calazal funcional, a formação de saco embrionário do tipo *Polygonum* e a presença de antípodas efêmeras, são condições frequentes entre os membros já estudados de Melastomataceae (Subramanyam 1942, 1948, 1951; Tobe & Raven 1983; Johri *et al.* 1992; Medeiros & Morretes 1996; Caetano *et al.* 2013a; Caetano *et al.* 2017). Na família, mudanças neste padrão, como a supressão ou alteração na meiose da célula-mãe de megásporos, pode estar relacionada à apomixia gametofítica do tipo diplospórica (Caetano *et al.* 2013b).

Apomixia facultativa e obrigatória em *Microlicia*

A constatação de eventos relacionados a reprodução sexuada em *M. fasciculata* e *M. polystemma*, como a formação sacos embrionários reduzidos, produção de alguma quantidade de grãos de pólen viáveis, deposição de grãos na superfície estigmática e crescimento de tubos polínicos, nos permite inferir que estas espécies são apomíticas facultativas. Em geral, os apomíticos retêm a capacidade de se reproduzirem via reprodução sexuada, produzindo sementes por meio de ambos processos (Asker & Jerling 1992; Savidan 2007; Noyes & Givens 2013). Tal característica confere a estas espécies variabilidade genética que possibilitam uma maior adaptabilidade frente a diferentes condições ambientais (Richards 1997). Além disso, a retenção de algum nível de sexualidade nos apomíticos facultativos parece mascarar mutações deletérias, prevenindo um decaimento genômico e a extinção destas linhagens (Hojsgaard & Hörandl 2015).

Um cenário diferente foi observado para *M. sp. nov.*, espécie com total esterilidade polínica, onde eventos de polinização não foram detectados. Estes dados sugerem que a população estudada deve se reproduzir exclusivamente por apomixia, caracterizando-a como uma apomítica obrigatória. Apomíticos obrigatórios também podem apresentar algum grau de variabilidade genética, gerada por diferentes vias, como recombinação somática, recombinação genética ou perda e ganho cromossômico (Richards 1996). Em Melastomataceae, *Miconia albicans*, uma apomítica obrigatória, apresenta uma inesperada e relativamente alta variabilidade genética, que parece ser garantida por meio de meiose restitucional, poliploidia e outras possíveis mudanças genômicas, conferindo a esta espécie uma notável plasticidade morfo-fisiológica (Dias *et al.* 2017). Assim, apomíticas obrigatórias, como *M. sp. nov.* podem apresentar um certo potencial adaptativo, contrariando a ideia que essas linhagens são um beco sem saída evolutivo, condenas à extinção precoce (Stebbins 1950).

CONCLUSÃO

A apomixia autônoma foi constatada nas três espécies de *Microlicia* estudadas, variando de facultativa à obrigatória. Curiosamente, Microlicieae emerge como um outro grupo em Melastomataceae com uma alta frequência de apomíticos (31% das espécies estudadas), o que têm sido registrado principalmente em Miconieae. É possível que estes clados possuam certas pré-adaptações à apomixia, como uma facilidade de hibridação natural entre os táxons, levando à evolução paralela desta condição.

Diferentes processos foram associados a apomixia em *Microlicia*, incluindo baixa à nula viabilidade polínica, decorrente de anormalidades meióticas e alterações durante o desenvolvimento do grão de pólen, e poliembrionia. Do ponto de vista

ecológico, a apomixia deve conferir vantagens adaptativas as espécies estudadas, conferidas pela capacidade de reprodução uniparental, independência de polinizadores e poliembryonia. Ainda, a ocorrência de eventos de reprodução sexuada, como sugerimos para *M. fasciculata* e *M. polystemma*, deve ser uma importante fonte de variação genética nestes táxons, conferindo-lhes certa plasticidade morfofisiológica e prevenindo o acúmulo de mutações deletérias. Neste sentido, apomixia facultativa pode ser uma estratégia reprodutiva importante no grupo, proporcionando às espécies uma certa flexibilidade reprodutiva e benefícios associados a ambos os tipos de reprodução, sexuada e assexuada. Por outro lado, apomixia obrigatória é sugerida em *M. sp. nov.*, um sistema apontado como incomum entre as angiospermas, mas que tem sido comumente registrado na família. Microlicieae é notoriamente diversa e frequente em áreas de Cerrado, especialmente nos Campos Rupestres, e a apomixia pode ter tido um papel importante na evolução e diversificação da tribo, assim como tem sido sugerido para outros grupos de angiospermas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeda F., Martins A.B. (2001) New Combinations and New Names in Some Brazilian Microlicieae (Melastomataceae), with Notes on the Delimitation of *Lavoisiera*, *Microlicia*, and *Trembleya*. *Novon*, **11**(1), 1-7.
<https://doi.org/10.2307/3393198>
- Almeda F., Martins A.B. (2012) *Microlicia wurdackiana* (Melastomataceae: Microlicieae), a new species from Bahia, Brazil. *Kew Bulletin*, **67**(3), 467-470.
<https://doi.org/10.1007/s12225-012-9396-y>
- Alves M.F., Duarte M.O., Bittencourt N.S., Oliveira P.E., Sampaio D.S. (2016) Sporophytic apomixis in polyembryonic *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose (Bignoniaceae) characterizes the species as an agamic polyploid complex. *Plant Systematic and Evolution*, **302**, 651-659. <https://doi.org/10.1007/s00606-016-1291-9>
- Apolinário V.A.R., Schiavini I. (2002) Levantamento Fitossociológico de espécies arbóreas de cerrado (*strictu sensu*) em Uberlândia - Minas Gerais. B. Herb. *Ezechias Paulo Heringer*, **10**, 57-75.
- Araujo A.C.G., Mukhambetzhonov S., Pozzobon, M.T., Santana E.F., Carneiro, V.T.C. (2000) Female gametophyte development in apomictic and sexual *Brachiaria brizantha* (Poaceae). *Revue Cytologie et de Biologie Vegetales - Le Botaniste*, **23**, 13-28.
- Araujo A., Nobrega J., Pozzobon M., Carneiro V (2005) Evidence of sexuality in induced tetraploids of *Brachiaria brizantha* (Poaceae). *Euphytica* **144**, 39-50.
<https://doi.org/10.1007/s10681-005-2842-2>

- Asker S.E., Jerling L. (1992) Apomixis in plants. Boca Raton, CRC: 298 pp.
- Bacci L.F., Versiane A.F.A., Oliveira A.L.F., Romero R. (2016) Melastomataceae na RPPN do Clube Caça e Pesca Itororó, Uberlândia, MG, Brasil. *Hoehnea*, **43**(4), 541-556. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-27/2016>
- Baker H.G. (1955) Self-Compatibility and establishment after 'long-distance' dispersal. *Evolution*, **9**(3), 347-349.
- Baker H. G., Stebbins G.L. (1965) The Genetics of Colonizing Species. New York: Academic.
- Baker H.G. (1967) Support for Baker's law – as a rule. *Evolution*, **21**, 853-856. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1967.tb03440.x>
- 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. <https://doi.org/10.1139/b98-223>
- Batygina T.B., Vinogradova G.Y. (2007) Phenomenon of polyembryony. Genetic heterogeneity of seeds. *Russian Journal of Developmental Biology*, **38**, 126-151. <https://doi.org/10.1134/S1062360407030022>
- Baumgratz J.F.A. (2015a) *Poteranthera* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB30800>>
- Baumgratz J.F.A., Martins A.B., Rodrigues K.F. (2015b) *Lavoisiera* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9492>>

- Baumgratz J.F.A., Martins A.B., Rodrigues K.F. (2015c) *Rhynchanthera* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9860>>
- Baumgratz J.F.A., Martins A.B., Rodrigues K.F. (2015d) *Stenodon* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB30822>>
- Baumgratz J.F.A., Souza M.L.D.R., Woodgyer E.M., NicLughada E.M. (1996) Polysporangiate anthers: described for the first time in Melastomataceae. *Kew Bulletin*, **51**, 133-144. <https://doi.org/10.2307/4118750>
- Borg M., Brownfield L., Khatab H., Sidorova., Lingaya M., Twell D. (2011) The R2R3 MYB transcription factor DUO1 activates a male germline-specific regulon essential for sperm cell differentiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **23**, 2534–2549. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.081059>
- Brito V.L.G., Fendrich T.G., Smidt E.C., Varassin I.G., Goldenberg R. (2016) Shifts from specialised to generalised pollination systems in Miconieae (Melastomataceae) and their relation with anther morphology and seed number. *Plant Biology*, **18**, 585–593. <https://doi.org/10.1111/plb.12432>
- Caetano A.P.S., Basso-Alves J.P., Cortez P.A., Brito V.L.G., Michelangeli F.A., Reginato M., Goldenberg R., Carmello-Guerreiro S.M., Teixeira S.P. (2018) Evolution of the outer ovule integument and its systematic significance in Melastomataceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **186**, 224-246. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box093>
- Caetano A.P.S., Cortez P.A., Teixeira P.A., Oliveira P.E., Carmello-Guerreiro S.S. (2017) Unusual diversity of apomictic mechanisms in a species of *Miconia*,

Melastomataceae. *Plant Systematic and Evolution* (in press.).
<https://doi.org/10.1007/s00606-017-1480-1>

Caetano A.P.S., Simão D.G., Carmo-Oliveira R., Oliveira P.E. (2013a) Diplospory and obligate apomixis in *Miconia albicans* (Miconieae, Melastomataceae) and an embryological comparison with its sexual congener *M. chamissois*. *Plant Systematic and Evolution*, **299**, 1253–1262. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0793-y>

Caetano A.P.S., Teixeira S.P., Forni-Martins E.R., Carmello-Guerreiro S.M. (2013b) Pollen insights into apomictic and sexual *Miconia* (Miconieae, Melastomataceae). *International Journal of Plant Science*, **174**, 760–768. <https://doi.org/10.1086/669927>

Capuccino N. (2004) Allee effect in the invasive alien plant, pale swallow-wort *Vincetoxicum rossicum* (Asclepiadaceae). *Oikos*, **106**, 3-8. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2004.12863.x>

Carman G. (1997) Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperm may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. *Biological Journal of Linnean Society*, **61**, 51-94. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1997.tb01778.x>

Carman J.G. (2007) Do duplicate genes cause apomixis? In Hörandl E., Grossniklaus U., Van Dijk P.J., Sharbel T. (Eds), *Apomixis: evolution, mechanisms and perspectives* (Eds) Ruggell A.R.G.G.:169-194.

Clausing G., Renner S.S. (2001) Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. *American Journal of Botany*, **88**, 486-498. <https://doi.org/10.1038/nrg1711>

- Comai L. (2005) The advantages and disadvantages of being a polyploid. *Nature Reviews Genetics*, **6**, 836-846. <https://doi.org/10.1038/nrg1711>
- Cortez P.A. (2012) Desenvolvimento na antera em espécies de *Miconia* (Melastomataceae) com diferentes sistemas reprodutivos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Cortez P.A., Caetano A.P.S., Carmello-Guerreiro S.M., Teixeira S.P. (2015) Anther wall and pollen development neotropical species-rich *Miconia* (Melastomataceae). *Plant Systematic and Evolution*, **301**, 217-230. <https://doi.org/10.1007/s00606-014-1067-z>
- Cortez P.A., Carmello-Guerreiro S.M. (2008) Ontogeny and structure of the pericarp and the seed coat of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) from “cerrado”, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, **31**, 71-79. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042008000100008>
- Cortez P.A., Carmello-Guerreiro S.M., Teixeira S.P. (2012) Understanding male sterility in *Miconia* species (Melastomataceae) – a morphological approach. *Australian Journal of Botany*, **60**, 506-516. <https://doi.org/10.1071/BT12076>
- Dayrell R.L.C., Garcia Q.S., Negreiros D., Baskin C.C., Baskin J.M., Oliveira F.A.O. (2016) Phylogeny strongly drives seed dormancy and quality in a climatically buffered hotspot for plant endemism. *Annals of Botany*, **119**, 267–277. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw163>
- Dias A.C.C., Serra A.C., Sampaio D.S., Borba F.I., Bonetti A.M., Oliveira P.F. (2017) Unexpectedly high genetic diversity and divergence among populations of the apomitic Neotropical tree *Miconia albicans*. *Plant biology*. <https://doi.org/10.1111/plb.12654>

- Ellison A.M., Denslow J.S., Loiselle B.A., Brenes D. (1993) Seed and seedling ecology of Neotropical Melastomataceae. *Ecology*, **74**, 1733–1749.
- Fritsch P.W., Almeda F., Renner S.S., Martins A.B., Cruz B.C. (2004) Phylogeny and circumscription of the near-endemic Brazilian tribe Microlicieae (Melastomataceae). *American Journal of Botany*, **91**, 1105–1114. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.7.1105>
- Guimarães P.J.F., & Ranga N.T. (1997) Sistema de reprodução de *Rhynchanthera dichotoma* (Lam.) DC. *Acta Botanica Brasilica*, **11**, 41-44.
- 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. *International Journal of Plant Sciences*, **169**, 963-979. <https://doi.org/10.1086/589697>
- Goldenberg R., Shepherd G.J. (1998) Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. *Plant Systematic and Evolution*, **211**, 13-29. <https://doi.org/10.1007/BF00984909>
- 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. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042001000300006>
- Grant V. (1981) *Plant Speciation*. Columbia University Press, New York.
- Grimanelli D., Garcia M., Kaszas E., Perotti El., Leblanc O. (2003) Heterochronic expression of sexual reproductive programs during apomitic development in *Tripsacum*. *Genetics*, **165**, 1521-1531.

- Hand M.L., Koltunow A.M. (2014) The genetic control of apomixis: asexual seed formation. *Genetics*, **197**, 441-450. <https://doi.org/10.1534/genetics.114.163105>
- Han M.J., Jung K.H., Yi G., Lee D.Y., An G. (2006). Rice Immature Pollen 1 (RIP1) is a regulator of late pollen development. *Plant Cell Physiology*, **47**, 1457–1472.
- Hojsgaard D., Hörandl E. (2015) A little bit of sex matters for genome evolution in asexual plants. *Frontiers in Plant Science*, **6**, 82. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00082>
- Hojsgaard D., Klatt S., Baier R., Carmam J.G., Hörandl E. (2014) Taxonomy and Biogeography of Apomixis in Angiosperms and Associated Biodiversity Characteristics. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **33**(5), 414-427. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.898488>
- Hollister J.D., Greiner S., Wang W., Wang J., Zhang Y., Wong G.K., Wright S.I., Johnson M.T.J. (2014) Recurrent loss of sex is associated with accumulation of deleterious mutations in *Oenothera*. *Molecular Biology and Evolution*, **32**(4), 896-905. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu345>
- Hörandl E. (2006) The complex causality of geographical parthenogenesis. *New Phytologist*, **171**, 525-538. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01769.x>
- Hörandl E. (2009) Geographical parthenogenesis: opportunities for asexuality. In: Schon I., Martens K., & Van Dijk P. (Eds), *Lost sex*. Heidelberg, Springer: 446.
- Hörandl E., Paun O. (2007) Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials and ecology. In: Hörandl E., Grossniklaus U., Van Dijk P., Sharbel T. (Eds), *Apomixis: evolution, mechanisms and perspectives*. Gantner, Ruggell: 169-194.

- Hörandl E. (2010) The evolution of self-fertility in apomictic plants. *Sexual Plant Reproduction*, **23**, 73-86. <https://doi.org/10.1007/s00497-009-0122-3>
- Hörandl E., Cosendai A., Temsch E.M. (2008) Understanding the geographic distributions of apomictic plants: a case for a pluralistic approach. *Plant Ecology & Diversity*, **1**, 309-20. <https://doi.org/10.1080/17550870802351175>
- Hörandl E., Hojsgaard D. (2012) The evolution of apomixis in angiosperms: A reappraisal. *Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, **146**(3), 681-693.
- 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. <https://doi.org/10.3732/ajb.95.4.447>
- Izmailow R. (1996) Observations in embryo and endosperm development in various chromosomic types of the apomitic species *Ranunculus cassubicus* L. *Acta Botanica Cracoviensia Series Botanica*, **10**, 99-111.
- Johansen D.A. (1940) *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Johri B.M., Ambegaokar K.B., Srivastava P.S. (1992) *Comparative embryology of angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin.
- Koltunow A.M., Grossniklaus U. (2003) Apomixis: a developmental perspective. *Annual Review of Plant Biology*, **54**, 547-574. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.110901.160842>

- Koltunow A.M., Johnson S.D., Bicknell R.A. (1998) Sexual and apomictic development in *Hieracium*. *Sexual Plant Reproduction*, **11**:213–230. <https://doi.org/10.1007/s004970050144>
- Koschnitzke C., Martins A.B. (2007) Revisão taxonômica de *Chaetostoma* DC. (Melastomataceae, Microlicieae). *Arquivo do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, **64**(2), 95-119.
- Koschnitzke C., Silva-Gonçalves K.C., Martins A.B., Rodrigues K.F. (2015) *Chaetostoma* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9436>>.
- 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. <https://doi.org/10.1139/b05-093>
- Lima J.F. (2013) Padrões do desenvolvimento da antera em espécies de Microlicieae (Melastomataceae). Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG.
- Lopes J.C., Dias P.C., Pereira M.D. (2005) Maturação fisiológica de sementes de quaresmeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **40**(8), 811-816.
- Lovell J.T., Williamson R.J., Wright S.I., McKay J.K., Sharbel T.F. (2017) Mutation Accumulation in an Asexual Relative of *Arabidopsis*. *PLoS Genetics*, **13**(1), e1006550. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006550>
- Luo Z., Zhang D., Renner S.S. (2008) Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin's division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology*, **22**, 794–800.

- Maia F.R., Varassin I.G., Goldenberg R. (2016) Apomixis does not affect visitation to flowers of Melastomataceae, but pollen sterility does. *Plant Biology*, **18**, 132-138. <https://doi.org/10.1111/plb.12364>
- Martins A.B., Rodrigues K.F., Silva-Gonçalves K.C. (2015) *Trembleya* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9979>>
- McDowell E.M., Trump B. (1976) Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **100**, 405-414.
- Medeiros J.D., Morretes B.L. (1996) The embryology of *Miconia cabucu* (Melastomataceae). *Cytologia*, **61**, 83-91. <https://doi.org/10.1508/cytologia.61.83>
- Medeiros J.D., Roos A.L. (1996) Aspectos do microsporângio, da microsporogênese e do gametófito masculino de *Tibouchina cerastifolia* (Naud.) Cogn. (Melastomataceae). *Biotemas*, **9**, 5-14.
- Meirmans P.G., Den Nijs, H.J.C.M., Van Tienderen, P.H. (2006) Male sterility in triploid dandelions: asexual females vs. asexual hermaphrodites. *Heredity*, **96**, 45-52. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800750>
- Melo G.F., Machado I.C. (1996) Biologia da reprodução de *Henriettea succosa* DC. (Melastomataceae). *Revista Brasileira de Biologia*, **56**, 383-389.
- Mendes-Rodrigues C., Araújo F.P., Barbosa-Souza C., Barbosa-Souza V., Ranal M.A., Santana D.G., 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.
<https://doi.org/10.1590/S0100-84042010000100009>

Mendes-Rodrigues C., Carmo-Oliveira R., Tavalera S., Arista M., Ortiz P.L., Oliveira P.E. (2005) Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae-Bombacoideae). *Plant Biology*, 7, 533-550. <https://doi.org/10.1055/s-2005-865852>

Mendes-Rodrigues C., Oliveira P.E. (2012) Polyembryony in Melastomataceae from Brazilian Cerrado: multiple embryos in a small world. *Plant Biology*, 14, 845-853. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00551.x>

Mendes-Rodrigues C., Ranal M.A., Oliveira P.E. (2011). Does polyembryony reduce seed germination and seedling development in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae: Bombacoideae)? *American Journal of Botany*, 98(10), 1-10. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100022>

Mendes-Rodrigues C., Sampaio D.S., Costa M.E., Caetano A.P.S., Ranal M.A., Bittencourt Jr N.S., Oliveira P.E. (2012) Polyembryony increases embryo and seedling mortality but also enhances seed individual survival in *Handroanthus species* (Bignoniaceae). *Flora*, 207, 264-274. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2011.10.008>

Mendoza-Cifuentes H., Fernández-Alonso J.L. (2010) Evaluación de caracteres del cáliz y de los estambres en la tribu Merianieae (Melastomataceae) y definición de homologías. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas*, 34(131), 143-172.

- Mendoza-Cifuentes H., Fernández-Alonso J.L. (2011) Análisis cladístico de *Centronia* (Merianieae, Melastomataceae) con base en caracteres morfológicos. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, **35**(137), 431-450.
- Meyer J.Y. (1996) Status of *Miconia calvescens* (Melastomataceae), a dominant invasive tree in the Society Islands (French Polynesia). *Pacific Science*, **50**(1), 66-76.
- Michelangeli F.A., Guimaraes P.J.F., Penneys D.S., Almeda F., Kriebel R. (2013) Phylogenetic relationships and distribution of New World Melastomeae (Melastomataceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **171**, 38-60. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01295.x>
- Mogie M., Britton N.F., Stewart-Cox J.A. (2007) Asexuality, polyploidy and the male function. In: Hörandl E., Grossniklaus U., Van Dijk P., Sharbel T. (Eds), *Apomixis: evolution, mechanisms and perspectives*. Gantner, Ruggell: 195–214.
- Mogie M. (1992) *The evolution of asexual reproduction in plants*. Chapman & Hall, London.
- Naumova T.N. (1993) *Apomixis in angiosperms: nucellar and integumentary embryony*. CRC Press, Boca Raton FL: 144 pp.
- Naumova T.N. (2008) Apomixis and amphimixis in flowering plants. *Cytology and Genetics*, **42**, 179-188. <https://doi.org/10.3103/S0095452708030055>
- Nogler G.A. (1984) Gametophytic apomixis. In: Johri BM (Ed), *Embryology of angiosperms*. Springer, Berlin: 475-518. https://doi.org/10.1007/978-3-642-69302-1_10

- Noirot M., Couvet D., Hamon S. (1997) Main role of pollination rate on reproductive allocations in pseudogamous apomicts. *Theoretical Applied Genetics*, **95**, 479-483. <https://doi.org/10.1007/s001220050586>
- Noyes R.D. (2007) Apomixis in the Asteraceae: diamonds in the rough. *Functional Plant Science and Biotechnology*. **1**, 207–222.
- Noyes R. D., Givens A. D. (2013) Quantitative assessment of megasporogenesis for the facultative apomicts *Erigeron annuus* and *Erigeron strigosus* (Asteraceae). *International Journal of Plant Sciences*, **174**, 1239–1250. <https://doi.org/10.1086/673243>
- O'Brien T.P., Feder N., McCully M.E. (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, **59**, 368-373.
- Pacini E., Franchi G.G., Hesse M. (1985) The tapetum: its form, function, and possible phylogeny in *Embryophyta*. *Plant Systematics and Evolution*, **149**, 155-185.
- Park S.K., Rahman D., Oh S.A., Twell D. (2004) Gemini pollen 2, a male and female gametophytic cytokinesis defective mutation. *Sexual Plant Reproduction*, **17**, 63-70. <https://doi.org/10.1007/s00497-004-0216-x>
- Pereira C.C.T. (2011). Assimetria flutuante, herbiboria, e Polinização em Melastomataceae. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.
- Ramirez N., Brito Y. (1990) Reproductive biology of a tropical palm swamp community in the Venezuelan Llanos. *American Journal of Botany*, **77**, 1260-1271. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1990.tb11378.x>

- Renner S.S. (1990) A revision of *Rhynchanthera* (Melastomataceae). *Nordic Journal of Botany*, **9**, 601-630.
- Renner S.S. (1989) A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **76**, 496-518.
<https://doi.org/10.2307/2399497>
- Renner S.S. (1993) Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. *Nordic Journal of Botany*, **13**, 519-540.
- Ribeiro R.C., & Oliveira D.M.T. (2014) Small and hard seeds: a practical and inexpensive method to improve embedding techniques for light microscopy. *Acta Botanica Brasilica*, **28**, 624-630. <https://doi.org/10.1590/0102-33062014abb3654>
- Ribeiro R.C., Oliveira D.M.T., Silveira F.A.O. (2015) A new seed coat water-impermeability mechanism in *Chaetostoma armatum* (Melastomataceae): evolutionary and biogeographical implications of physiophysical dormancy. *Seed Science Research*, **25**(2), 194-202.
<https://doi.org/10.1017/S0960258515000070>
- Richards A.J. (1996) Genetic variability in obligate apomicts of the genus *Taraxacum*. *Folia Geobotanica*, **31**, 405-414.
- Richards A.J. (1997) *Plant breeding systems*. Chapman & Hall, London.
- Rodrigues E.R.S., Silveira F.A.O. (2013) Seed germination requirements of *Trembleya laniflora* (Melastomataceae), an endemic species from neotropical montane rocky savannas. *Plant Species Biology*, **28**, 165–168.
<https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2012.00396.x>

- Rodrigues, K.F. (2005) A tribo Microlicieae (Melastomataceae) na Serra do Cabral, Minas Gerais. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, SP.
- Romero R., Martins A.B. (2002) Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, **25**(1), 19-24.
- Romero R., Woodgyer E. (2015) *Microlicia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9782>>.
- Rosa R., Lima S.C.C., Assunção W.L. (1991) Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *Sociedade e Natureza*, **3**, 91-108.
- Santos A.P.M., Fracasso C.M., Santos M.L., Romero R., Sazima M., Oliveira P.E. (2012) Reproductive biology and species geographical distribution in the Melastomataceae: a survey based on New World taxa. *Annals of Botany*, **110**, 667-679. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs125>
- Santos M.L. (2003) Florística e Biologia Reprodutiva de espécies de Melastomataceae no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas e Parque Estadual dos Pirineus, Goiás. Tese (Doutorado em Ecologia) – Universidade de Brasília.
- Savidan Y. (2007) Apomixis in higher plants. In: Hörand E., Grossniklaus U., Van Dijk P.J., Sharbe, T. (Eds), *Apomixis: evolution, mechanisms and perspectives*. ARG-Gantner, Ruggell: 15–22.
- Silveira F.A.O., Fernandes G.W., Lemos-Filho J.P. (2013) Seed and seedling ecophysiology of Neotropical Melastomataceae: implications for conservation and restoration of savannas and rainforests. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **99**, 82–99. <https://doi.org/10.3417/2011054>

Silveira F.A.O., Ribeiro R.C., Oliveira D.M.T., Fernandes W., Lemos-Filho J.P.

(2012) Evolution of physiological dormancy multiple times in Melastomataceae from Neotropical montane vegetation. *Seed Science Research*, **22**, 37–44. <https://doi.org/10.1017/S0960258511000286>

Simão E., Nakamura A.T., Takaki M. (2007) Época de colheita e capacidade germinativa de sementes de *Tibouchina mutabilis* (Vell.) Cogn. (Melastomataceae). *Biota Neotropica*, **7**, 67–73.

Soares N.C., Morellato L.P.C. (2017) Crepuscular pollination and reproductive ecology of *Trembleya laniflora* (Melastomataceae), an endemic species in mountain rupestrian grasslands. *Flora* (in press.). <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.12.005>

Solt M.L., Wurdack J.J. (1980) Chromosome numbers in Melastomataceae. *Phytologia*, **47**, 199–220.

Sousa-Silva S.C.S. (2000) Biologia reprodutiva de Polinização de Melastomataceae no Parque do Sabiá, Município de Uberlândia, MG. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade de Brasília.

Stebbins G. L. (1950) *Variation and Evolution in Plants*. Columbia Univ. Press.

Subramanyam K. (1942) Gametogenesis and embryogeny in a few members of Melastomataceae. *Journal of the Indian Botanical Society*, **21**, 69–85.

Subramanyan K. (1944) A contribution on the life-history of *Sonerila wallichii* Benn. Proceedings of the *Indian Academy Science*, **19**, 115–120. <https://doi.org/10.1007/BF03049776>

- Subramanyam K. (1948) An embryological study of *Melastoma malabathricum* L. *Journal of the Indian Botanical Society*, **27**, 11–19.
- Subramanyam K. (1951) Embryology of *Oxyspora paniculata*. *Phytomorphology*, **1**, 205–212.
- Thompson S.L., Choe G., Ritland K., Whitton J. (2008) Cryptic sex within male-sterile polyploid populations of the Easter daisy, *Townsendia hookeri*. *International Journal of Plant Sciences*, **169**, 183–193. <https://doi.org/10.1086/523363>
- Thompson S.L., Whitton J. (2006) Patterns of recurrent evolution and geographic parthenogenesis within apomictic polyploid Easter daisies (*Townsendia hookeri*). *Molecular Ecology*, **15**, 3389–3400.
- Tobe H., Raven P.H. (1983) An embryological analysis of Myrtales, its definition and characteristics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **70**, 71–94. <https://doi.org/10.2307/2399008>
- Tobe H., Raven P.H. (1986) Evolution of polysporangiate anthers in Onagraceae. *American Journal of Botany*, **73**(4), 475–488. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1986.tb12065.x>
- Tucker M.R., Koltunow A.M. (2009) Sexual and asexual (apomictic) seed development in flowering plants: molecular, morphological and evolutionary relationships. *Functional Plant Biology*, **36**, 1–15. <https://doi.org/10.1071/FP09078>
- Twell D., Howden R. (1998). Cell polarity, asymmetric division and cell fate determination in developing pollen. In: Owens S.J., & Rudall P.J. (Eds), *Reproductive Biology*. Royal Botanic Gardens, Kew: 197–218.

- Twell D., Park S.K., Lalanne E. (1998) Asymmetric division and cell-fate determination in developing pollen. *Trends in Plant Science*, **3**(8), 305-310.
[https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01277-1](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01277-1)
- Wen X.S., Ye X.L., Li Y.Q., Chen Z.L., Xu S.X. (1998) Embryological studies on apomixis in *Pennisetum squamulatum*. *Acta Botanica Sinica*, **40**, 598-604.
- Westerkamp C. (1996) Pollen in bee-flower relations – Some considerations on melittophily. *Botanica Acta*, **109**, 325–332.
- Whitton J., Sears C.J., Baack E.J., Otto S.P. (2008) The dynamic nature of apomixis in the angiosperms. *International Journal of Plant Science*, **169**, 169-182.
<https://doi.org/10.1086/523369>
- Yao J., Zhou Y., Hu C. (2007) Apomixis in *Eulaliopsis binata*: characterization of reproductive mode and endosperm development. *Sexual Plant Reproduction*, **20**, 151-158. <https://doi.org/10.1007/s00497-007-0051-y>
- Zaia J.E., Takaki M. (1998) Estudo da germinação de sementes de espécies arbóreas pioneiras: *Tibouchina pulchra* Cogn. e *Tibouchina granulosa* Cogn. (Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica*, **12**, 221-229.