UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE BIGNONIACEAE OCORRENTES NO CERRADO E VARIAÇÕES NO SISTEMA DE AUTOINCOMPATIBILIDADE

DIANA SALLES SAMPAIO

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eugênio A. M. Oliveira
Coorientador: Prof. Dr. Nelson Sabino Bittencourt Jr.

Uberlândia, março de 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE BIGNONIACEAE OCORRENTES NO CERRADO E VARIAÇÕES NO SISTEMA DE AUTOINCOMPATIBILIDADE

DIANA SALLES SAMPAIO

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eugênio A. M. Oliveira
Coorientador: Prof. Dr. Nelson Sabino Bittencourt Jr.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação dos Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Uberlândia, março de 2010

DIANA SALLES SAMPAIO

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE BIGNONIACEAE OCORRENTES NO CERRADO E VARIAÇÕES NO SISTEMA DE AUTOINCOMPATIBILIDADE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação dos Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Aprovada em: 26/03/2010

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Leite Borba – UFMG _____

Profa. Dra. Eliana Forni-Martins – UNICAMP _____

Profa. Dra. Renata Carmo-Oliveira – UFU _____

Profa. Dra. Rosana Romero – UFU _____

Prof. Dr. Paulo Eugênio A. M. Oliveira – UFU _____

Suplentes:

Profa. Dra. Lúcia Garcez Lohmann – USP _____

Profa. Dra. Júlia Yamagishi-Costa – UFU _____

Uberlândia, março de 2010

Dedico este trabalho a todos aqueles que vibram com os processos acerca da vida, da existência, tentando humildemente compreendê-los.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Dr. Paulo Eugênio A. M. de Oliveira, pela paciência, por ter aceitado me orientar, por disponibilizar os meios para a realização de nossos trabalhos de pesquisa e, principalmente, pelo aprendizado que pude ter com pessoa de tamanha competência durante estes quase quatro anos de convivência, que contribuiu sobremaneira para a minha formação enquanto pesquisadora.

Ao meu coorientador, Dr. Nelson Sabino Bittencourt Júnior, pela paixão e dedicação que tem para com o seu trabalho, os quais fizeram com que eu me espelhasse e tentasse seguir seus passos desde os tempos da graduação. Agradeço por ter aceitado a parceria neste trabalho e pelo estímulo de sempre.

Aos meus professores de Botânica da PUC-MG, UFMG e UFRGS, à Dra. Maria Eugênia Costa e ao Dr. Jorge Ernesto de Araujo Mariath, os quais despertaram em mim a paixão pelo estudo da reprodução vegetal e me deram os primeiros suportes necessários à atuação como pesquisadora nessa área tão excitante.

Aos colegas, professores e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação dos Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia em si, que permitiram que eu ampliasse o meu olhar enquanto Botânica através das lentes da Ecologia, o que, sem dúvidas, mudou minha postura como pesquisadora e acredito ter contribuído muito para minha formação profissional.

Ao colega Ms. Clesnan Mendes-Rodrigues, pela amizade, interesses em comum (apomixia/poliembrionia), pelas diversas idas ao campo, e por me ajudar com as dúvidas acerca da estatística.

À amiga Dra. Júlia Yamagishi-Costa, pelo suporte dado para a realização do trabalho de citogenética, e pelo apoio de sempre na pesquisa, docência e como amiga. Obrigada pelas conversas sobre a Academia e sobre o mundo fora dela.

Aos queridos colegas e amigos Ms. Ana Paula Milla dos Santos, Ms. Tiago Martins Rezende e Ms. Thatiana Mesquita, pela excelente companhia no campo e pelo auxílio na observação dos visitantes florais.

Aos graduandos do Curso de Ciências de Biológicas da UFU, Thaíssa Brogliato Junqueira Engel e Jefferson Rodrigues de Souza, pela ajuda no trabalho de campo e por terem acreditado e continuarem acreditando no trabalho.

Às graduandas do Curso de Ciências de Biológicas da UFU, Gabriela Alves Lobo, que

muito me ajudou com a parte técnica de quantificação de sementes poliembriônicas e confecção do laminário de citogenética; Poliana Borges e Marcela Porta, que me auxiliaram com a parte técnica de microtomia.

À amiga Luciana Custódio, pelas ajudas no aperfeiçoamento das apresentações do Exame de Qualificação e da Defesa da Tese, pelas agradáveis conversas e por sempre promover a união de nosso grupo de pesquisa.

Ao Dr. Dorival José Coral, pela ajuda na coleta de sementes de algumas espécies de *Anemopaegma* nos municípios de Bauru e Botucatu, SP, e pela simpatia e hospitalidade com que me recebeu.

À colega Ms. Adriana Machado, por estar sempre disposta a ajudar e pelos diversos auxílios nos trabalhos de campo.

Ao amigo Ms. Rubens Custódio, por ter me acompanhado na primeira campanha à Serra do Cipó.

Aos prezados Dra. Bia Baker, Ms. Marcelo Pace, e Dr. Sérgio de Faria Lopes pelas fotografias cedidas.

Ao Lázaro, pelos ensinamentos sobre plantio de sementes, cultivo de mudas e sobre Ciências.

Aos prezados colegas de laboratório Ana Paula Caetano, Luciana Custódio, Rafaela Cabral Marinho, Pietro Kiroshi, Marianas, Ms. Adriana Machado, Ms. Ana Paula Milla dos Santos, Ms. Felipe Wanderley Amorim, Ms. Glória Matallana, Dra. Juliana Marzinek, Dra. Marcela Yamamoto, Dra. Neuza Maria de Castro, Dra. Helena Maura Toresan-Silingardi, Dra. Renata Carmo-Oliveira e à Marcinha, pela ótima convivência, troca de idéias, e pelas ajudas mútuas.

Aos colegas de Doutorado, Jonas Byk, Marieta Caixeta e Sérgio F. Lopes, por serem pessoas de excelente convivência e pela companhia nas aulas de espanhol.

Aos amigos Dra. Daniela Simão e Ms. Jonas Byk por terem sido as primeiras pessoas a me receber em Uberlândia e terem me dado suporte para me estabelecer na cidade, obrigada pela hospitalidade.

Aos amigos, Ms. Priscila Oliveira Rosa, Ms. Thatiana Mesquita, Denise Maia, Ricardo Dias, e outros tantos, pelos momentos de descontração.

Aos amigos Carol, Andréa Pedroso, Gleydson Pinheiro e José Alberto, pelos ótimos seis meses que vivemos no Cazeca, foi uma excelente surpresa encontrar vocês. Especialmente ao amigo Ms. José Alberto Roza Júnior, por ser um amigo daqueles que estão

firmes no sol ou na chuva, mesmo depois de um longo e tenebroso inverno.

Ao meu amado Daniel, por ter estado ao meu lado incondicionalmente num momento tão difícil e por ter me auxiliado em diversos momentos durante o desenvolvimento da tese. À minha nova família, Dani e Pingo, por terem feito de Uberlândia um lar de verdade.

À minha família, que me deu suporte para eu ser quem eu sou e estar onde estou, agradeço pelo amor incondicional. Especialmente à minha mãe, Marília, que sempre me indicou o melhor caminho e me ensinou a ter garra para segui-lo.

Agradeço, ainda, às secretárias do INBIO, Helena, Nívea e Luiza, e do PPGECRN, Maria Angélica pela simpatia e presteza em ajudar.

À curadoria e aos funcionários do Herbarium Uberlandense que viabilizaram a inclusão do material testemunho da Tese em suas dependências.

Às Dras. Lúcia Garcez Lohmann e Fabiana Firetti, e ao Dr. Dorival José Coral pelo auxílio na identificação das espécies vegetais estudadas.

Aos especialistas em abelhas, Dra. Solange Cristina Augusto, Dr. Fernando Silveira, Dra. Cláudia Inês Silva e Ms. Leonardo Correia da Rocha pelo auxílio com a identificação dos visitantes florais.

À direção do Clube de Caça & Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), que permitiu o desenvolvimento de diversos experimentos na RPPN localizada dentro do clube e em suas adjacências.

À diretoria do Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, GO, pela permissão para desenvolvimento de pesquisa no Parque, pelo alojamento e pela hospitalidade de seus funcionários.

Ao IBAMA/Instituto Chico Mendes, pela licença concedida para trabalhar no Parque Nacional da Serra do Cipó, MG, pelo alojamento e pela hospitalidade dos funcionários na sede do Parque.

Ao CNPq, pelo financiamento do projeto de pesquisa a que esta Tese esteve vinculada.

E, por último, embora não menos importante, à CAPES, pela bolsa de estudos concedida, sem a qual este trabalho não teria sido possível.

PREFÁCIO

A presente Tese de Doutorado consiste em um Capítulo Introdutório que embasa a discussão dos seis Capítulos subsequentes. Os Capítulos foram escritos em formato de artigos científicos, embora ainda não estejam formatados de acordo com nenhuma revista científica em particular. A última seção da Tese consiste na seção de Considerações finais que apresenta os principais pontos discutidos acerca da influência da forma de vida e do número cromossômico sobre o sistema reprodutivo de espécies de Bignoniaceae.

As alterações na taxonomia de Bignoniaceae decorrentes de novidades verificadas em estudos de filogenia molecular geraram novas combinações dentre as espécies da família. Como as mudanças ainda são muito recentes, as novas combinações e as sinonímias das espécies estudadas quanto à ploidia ou ao sistema reprodutivo, que participam de inúmeras discussões ao longo da tese, são apresentadas na Tabela 1 do Capítulo Introdutório para fins de consulta, mas não aparecem nas demais seções da Tese. As mudanças taxonômicas ocorridas para as espécies investigadas na Tese são apresentadas nos Capítulos em que cada espécie é tratada.

A maioria das abreviações empregadas ao longo dos capítulos apresenta a sigla comumente utilizada em Inglês, que facilitará a associação ao seu significado devido a mais ampla utilização e aceitação dos termos nesta língua. Optou-se por não realizar citação de resumos simples publicados em Congressos ou Encontros, o que provavelmente facilitará a publicação posterior dos Capítulos em revistas científicas de maior impacto.

RESUMO

Sampaio, D. S. 2010. Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade. **Tese de Doutorado**. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 239p.

A família Bignoniaceae apresenta predominantemente sistema reprodutivo de autoincompatibilidade e número diplóide de cromossomos, embora espécies autoférteis, apomíticas e poliplóides já tenham sido reportadas. A flora do Cerrado parece concentrar um elevado número de espécies poliplóides, e o estrato herbáceo-arbustivo deste bioma apresenta espécies predominantemente autoférteis, contrastando com as árvores, em sua maioria autoestéreis. Tais constatações nos levaram a investigar se as espécies subarbustivas de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado apresentariam alterações no nível de ploidia e/ou no sistema reprodutivo. Além disso, analisamos os grupos em que estas alterações já foram verificadas e suas possíveis causas. Para tal, o número cromossômico e a ocorrência de poliembrionia foram determinados em populações de 23 espécies de Bignoniaceae e estudos de biologia reprodutiva foram realizados em sete espécies subarbustivas. Estudos do sistema reprodutivo também foram realizados em espécies arbóreas de *Handroanthus*. Análises histológicas foram realizadas para confirmar a origem somática dos embriões supranumerários em *Anemopaegma acutifolium*. Nossos dados mostraram que a mudança na forma de vida de árvores ou lianas para o hábito subarbustivo no Cerrado não implicou em modificações nos sistemas reprodutivos, indicando que as espécies puderam se adaptar ao novo estrato vegetacional mantendo-se autoestéreis e diplóides. Entretanto, as espécies subarbustivas do gênero *Anemopaegma* foram confirmadas como autoférteis e poliplóides. Foi verificada a presença de complexos agâmicos poliplóides apenas nos gêneros *Anemopaegma* e *Handroanthus*, os quais apresentam apomixia esporofítica e são autoférteis. O fluxo gênico intercitótipos é viável entre as espécies estudadas de *Handroanthus*, indicando a manutenção da reprodução sexuada nestas espécies e, com isso, a manutenção de uma elevada variabilidade genética. As modificações no sistema de autoincompatibilidade em espécies de Bignoniaceae parecem ter diferentes causas, sendo a poliploidização uma das mais efetivas. A autofertilidade associada à poliploidia se concentra em espécies de origem aparentemente híbrida, não apresentando relação com as diferentes formas de vida presentes na família Bignoniaceae. Entretanto, a hibridação não parece levar necessariamente a formação de complexos agâmicos, visto que as evidências de hibridação em *Adenocalymma* foram detectadas em populações autoestéreis e diplóides.

Palavras-chave: apomixia esporofítica, autofertilidade, forma de vida, hibridação, poliploidia, sistema reprodutivo.

ABSTRACT

Sampaio, D. S. 2010. Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade. **Tese de Doutorado**. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 239p.

Bignoniaceae present mainly self-incompatibility system and diploid chromosome number, although some self-fertile, apomictic and polyploid species have been reported. The Cerrado flora seems to concentrate a high number of polyploid angiosperm species and the herbaceous-shrub layer presents species predominantly self-fertile, which contrasts with the mostly self-sterile trees species. Such features led us to investigate if the sub-shrub species of Bignoniaceae occurring in the Cerrado present changes on ploidy level or on breeding system which would conform to those general trends. Furthermore, we analyzed in detail these groups to understand the possible causes of such changes. In this sense, we determined the chromosome number and occurrence of polyembryony in populations of 23 species of Bignoniaceae and detailed the floral biology and breeding systems of seven sub-shrub species. We also did breeding system studies in tree species of *Handroanthus*. Histological analyses were carried out in order to confirm the somatic origin of the extranumerary embryos in *Anemopaegma acutifolium*. Our data showed that changes in life-form from trees or lianas into sub-shrub Cerrado species did not imply in breeding system changes, indicating the species were able to adapt to the new habitat and life-form maintaining self-sterility and diploid chromosome number. However, *Anemopaegma* sub-shrub species from the Cerrado were confirmed as self-fertile and polyploidy. Polyploid agamic complexes were observed only in the genera *Anemopaegma* and *Handroanthus*, which presented sporophytic apomixis and self-fertility. Gene flow among citotypes was viable for the species of *Handroanthus*, indicating that sexual reproduction was preserved in this agamic complex, concurring to maintain a high genetic variability. The observed changes on the breeding systems of the studied species of Bignoniaceae may have different causes, polyploidization being probably the most effective. The self-fertility associated with polyploidy is present mostly in species possibly of hybrid origin, without apparent links with the different life forms in the Bignoniaceae. However, the hybridization did not lead necessarily to the rise of agamic complexes, since the evidences of hybridization in *Adenocalymma* were detected in self-sterile and diploid populations.

Key-words: breeding system, hybridization, life form, polyploidy, self-fertility, sporophytic apomixis.

SUMÁRIO

Agradecimentos ---------- v
Prefácio ---------- viii
Resumo ---------- ix
Abstract ---------- x
Introdução ---------- 1
1 - Ecologia da polinização ---------- 3
2 - Hibridações ---------- 5
3 - Evolução do número cromossômico ---------- 6
4 - Sistemas reprodutivos ---------- 9
4.1 - Os sistemas de autoincompatibilidade ---------- 9
4.2 - Quebra no sistema de autoincompatibilidade ---------- 11
4.2.1 - Quebra no sistema de autoincompatibilidade de espécies diplóides ---------- 13
4.2.2 - Quebra no sistema de autoincompatibilidade de espécies poliplóides ---------- 14
4.3 - Apomixia ---------- 15
4.3.1- Apomixia e poliploidia ---------- 18
4.3.2- Implicações da apomixia e da poliploidia ---------- 19
5 - Conclusões e perspectivas ---------- 21
6 - Objetivos e estrutura da tese ---------- 22
Referências Bibliográficas ---------- 23
Capítulo 1 - Ploidia e sistema reprodutivo em Bignoniaceae ---------- 39
Resumo ---------- 39
Introdução ---------- 40
Material e Métodos ---------- 43
Resultados ---------- 44
Discussão ---------- 58
Referências Bibliográficas ---------- 69
Capítulo 2 - Cruzamentos experimentais entre diferentes citótipos de *Handroanthus* ---------- 78
Resumo ---------- 78
Introdução ---------- 79
Material e Métodos ---------- 81
Resultados ---------- 86
Discussão ---------- 91
Referências Bibliográficas ---------- 95
Capítulo 3 - Apomixia e poliembrionia em espécies poliplóides de *Anemopaegma* (Bignoniaceae) típicas do Cerrado ---------- 99
Resumo ---------- 99
Introdução ---------- 100
Material e Métodos ---------- 103
Resultados ---------- 107
Discussão ---------- 122
Referências Bibliográficas ---------- 132
Capítulo 4 - Hibridação e biologia reprodutiva em espécies subarbustivas de *Adenocalymma* (Bignoniaceae) ---------- 139
Resumo ---------- 139
Introdução ---------- 140
Material e Métodos ---------- 142

Resultados ---------- 149
Discussão ---------- 160
Referências Bibliográficas ---------- 167
Capítulo 5 - Manutenção do sistema de autoincompatibilidade em espécies subarbustivas de Bignoniaceae do Cerrado ---------- 173
Resumo ---------- 173
Introdução ---------- 174
Material e Métodos ---------- 175
Resultados ---------- 182
Discussão ---------- 192
Referências Bibliográficas ---------- 196
Capítulo 6 - Ecologia reprodutiva de duas espécies subarbustivas de *Jacaranda* (Bignoniaceae) em diferentes áreas de Cerrado ---------- 202
Resumo ---------- 202
Introdução ---------- 203
Material e Métodos ---------- 205
Resultados ---------- 212
Discussão ---------- 222
Referências Bibliográficas ---------- 228
Considerações finais ---------- 234

INTRODUÇÃO

A grande diversidade de plantas nas regiões tropicais é, em grande parte, explicada pelo modo como elas se reproduzem (Bawa 1974, Oliveira & Gibbs 2000). A requisição por agentes polinizadores e a existência de sistemas de autoincompatibilidade controlados geneticamente parecem ser alguns dos mais importantes fatores promovedores de diversidade em plantas lenhosas dos biomas tropicais, como as florestas tropicais úmidas (Bawa 1974, Bawa *et al.* 1985, Bullock 1985) e os cerrados (Oliveira & Gibbs 2000). Alternativamente, nestes mesmos biomas o estrato herbáceo-arbustivo possui predominantemente plantas autoférteis, que também possuem formas de reprodução vegetativa ou apomixia, tendo como principal alternativa para o aumento da diversidade o ciclo de vida mais curto, que permite o constante reestabelecimento de suas populações através da reprodução sexuada (Barbosa & Sazima 2007, Barringer 2008). Processos de hibridação e poliploidização que são capazes de gerar um rápido incremento da variabilidade genética (Stebbins 1971, Judd *et al.* 2008, Crepet & Niklas 2009, Soltis *et al.* 2009) são raros dentre os animais, mas amplamente difundidos dentre as plantas (Levin 2002, Crepet & Niklas 2009, Soltis *et al.* 2009). Esses processos podem ser favorecidos pela biologia reprodutiva de plantas lenhosas que necessitam de agentes polinizadores (Ellstrand *et al.* 1996).

Bignoniaceae é uma das famílias mais diversas de plantas lenhosas da América tropical (Gentry 1980, Lohmann 2006), representada por cerca de 82 gêneros e 827 espécies (Olmstead *et al.* 2009), podendo ser considerada um modelo para processos evolutivos que levaram à grande diversidade das comunidades de plantas tropicais (Gentry 1990). A família é pantropical, com seu centro de diversidade nos neotrópicos, com cerca de 620 espécies (Gentry 1980, Spangler & Olmstead 1999), onde parece ter se originado (Olmstead *et al.* 2009). Ocorre em todo o território brasileiro, com representantes na Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Cerrado, Pantanal e Caatinga (Gentry 1980, Gentry 1992, Lohmann & Pirani 1996, 1998, Ribeiro 1998, Carvalho *et al.* 2007). Sua diversidade também é elevada dentro de cada comunidade vegetal em que ocorre, estando suas espécies adaptadas a uma ampla gama de variações ambientais (Gentry 1976, 1980, 1990).

Os recentes estudos de filogenia molecular apresentaram mudanças importantes na taxonomia da família (Spangler & Olmstead 1999, Lohmann 2006, Grose & Olmstead 2007 a e b, Olmstead *et al.* 2009, Lohmann, no prelo) e, atualmente, Bignoniaceae faz parte da ordem Lamiales (Judd *et al.* 2008), sendo representada por oito tribos: Bignonieae, Catalpeae,

Coleeae, Crescentieae, Jacarandeae, Oroxyleae, Tecomeae e Tourrettieae (Olmstead *et al.* 2009). A família é composta predominantemente por plantas perenes como árvores, arbustos e lianas, as quais são representadas em sua maioria pelas espécies da tribo Bignonieae, além de dois gêneros herbáceos que constituem exceções à regra (Gentry 1980, Olmstead *et al.* 2009).

Sua grande diversidade e vários aspectos de sua biologia evidenciam uma intrincada relação com animais, principalmente com os insetos (Gentry 1974b). A relação mais rica entre animais e plantas em Bignoniaceae está associada aos visitantes florais, devido à relativa especialização e à grande variabilidade morfológica das flores (Gentry 1974b). A variabilidade da morfologia floral, dos padrões fenológicos e a sazonalidade no período de floração (Gentry 1974a e b) disponibilizam diferentes nichos aos polinizadores e auxiliam na manutenção do isolamento reprodutivo das espécies, evitando que o mesmo polinizador visite diferentes espécies numa mesma área e na mesma época do ano (Gentry 1980, Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Zjhra 2008).

A grande especialização da flor e dos visitantes florais se mostra essencial para o sucesso da reprodução sexuada em Bignoniaceae, visto que 77,8% das espécies já avaliadas quanto ao sistema reprodutivo são autoestéreis, exigindo pólen cruzado para que haja o desenvolvimento de frutos (Tabela 1). Diversos autores aceitam que a autoesterilidade em Bignoniaceae seja controlada geneticamente e que suas espécies apresentem um tipo de sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) (Amaral 1992, Vieira *et al.* 1992, James & Knox 1993, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003, Bianchi *et al.* 2005, Vikas *et al.* 2009). A constância no sistema reprodutivo condiz com a constância do número cromossômico diplóide das espécies de Bignoniaceae (Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998) (Tabela 1), visto que as poliploidizações, que ocorrem em apenas 6,5% das espécies analisadas (Tabela 1), têm um efeito comprovado sobre os sistemas reprodutivos das plantas podendo resultar em autofertilidade e apomixia (Carman 1997, Barringer 2007, Husband *et al.* 2008, Allen & Hiscock 2008).

Apesar do sistema reprodutivo e da ploidia em Bignoniaceae serem relativamente constantes (Tabela 1), variações nesses padrões vêm sendo reportadas na literatura (Bowden 1940, 1945, Venkatasubban 1945, Pathak *et al.* 1949, Goldblatt & Gentry 1979, Ynagizawa & Gottsberger 1983, Bullock 1985, Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Piazzano 1998, Dutra & Machado 2001, Costa *et al.* 2004, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Qu *et al.* 2007, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Firetti 2009), mas os fatores que a promovem ainda são muito pouco discutidos (Bittencourt Júnior & Semir 2005). As alterações no sistema

reprodutivo têm consequências extremamente importantes para a ecologia de populações e comunidades, bem como para evolução e diversificação destes grupos de plantas (Richards 1986, Levin 2002, Judd *et al.* 2008), tornando um estudo mais aprofundado destas variações essenciais para a conservação e manejo dessas espécies.

As modificações na ecologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae podem estar relacionadas a diversos fatores. A ocorrência de populações isoladas com reduzida variabilidade genética (Richards 1986), a transição de grupos arbóreos e de lianas para espécies correlatas de subarbustos (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008), a ocorrência de hibridações vinculadas ou não às poliploidizações (Richards 1986, Levin 2002), ou mesmo a ação antrópica (Ellstrand & Schierenbeck 2000) podem ser os responsáveis pelas modificações no sistema reprodutivo das angiospermas. As alterações no sistema reprodutivo geralmente tendem à autofertilidade (Allen & Hiscock 2008, Igic *et al.* 2008) e apomixia (Asker & Jerling 1992), que podem diminuir a variabilidade genética de suas espécies (Richards 1986), mas também podem significar uma forma de escapar à esterilidade e até mesmo de incrementar a variabilidade genética quando mais de um sistema reprodutivo estiver atuando (Allem 2004, Hörandl & Paun 2007).

Uma revisão dos sistemas de reprodução e da ploidia das espécies de Bignoniaceae é apresentada a seguir, a fim de compreender melhor as razões da ocorrência de variações no sistema reprodutivo e nos números cromossômicos da família. O objetivo desta introdução é embasar as discussões que se seguem nos estudos de caso apresentados dos Capítulos um a seis e apresentar o objetivo geral da Tese.

1 - Ecologia da polinização

As Bignoniaceae possuem um amplo espectro de polinizadores efetivos para dez diferentes tipos florais com morfologia distinta (Gentry 1974a, 1980, 1990). Os cinco tipos florais polinizados por abelhas são Anemopaegma, o mais abundante, Tynanthus, também polinizado por borboletas, Pithecoctenium, Amphilophium e Cydista (Gentry 1974b). As flores que atraem essas abelhas emitem odor adocicado, são amarelas, purpúreas, rosas ou brancas e oferecem como principal recurso floral um néctar de elevadas concentrações, possuindo em torno de 20% de açúcares solúveis (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006). Os demais tipos florais são visitados por mariposas (Tanaecium), beija-flores (Pyrostegia), outras aves (Spathodea), micro e megaquirópteros (Crecentia) e

preferencialmente por megaquirópteros (*old-world bat flowers*) (Gentry 1974b).

Cerca de 75% das espécies de Bignoniaceae de uma dada comunidade vegetal são polinizadas por abelhas (Gentry 1980), e o grupo mais importante é, sem dúvida, o das abelhas de médio e grande porte, sendo as espécies das tribos Centridini e Euglossini consideradas os principais polinizadores efetivos da família (Stephenson & Thomas 1977, Vieira *et al.* 1992, Vitali & Machado 1995, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Os polinizadores especializados como essas abelhas, que possuem aparelhos bucais longos capazes de atingir o néctar em flores tubulares e capazes de voar grandes distâncias (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006), são vitais para a manutenção e diversificação das espécies de Bignoniaceae por propiciarem a ocorrência de polinizações cruzadas que garantem a reprodução sexuada nas espécies (Tabela 1).

As abelhas também podem funcionar como pilhadores, que roubam o néctar das flores realizando uma pequena perfuração na base da corola ou se aproveitando de perfurações já existentes e se alimentando do néctar acumulado na câmara nectarífera (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006). Os principais pilhadores de néctar relatados para as espécies de Bignoniaceae são as abelhas dos gêneros *Oxaea*, *Xylocopa* e os beija-flores (Vieira *et al.* 1992, Vitali & Machado 1995, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Guimarães *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). O número de visitas ilegítimas realizadas por estes animais pode ser elevado e muitas vezes supera a visitação pelos polinizadores efetivos (Vieira *et al.* 1992, Vitali & Machado 1995, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Guimarães *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Essa elevada frequência de visitação faz com que os pilhadores de néctar sejam aparentemente prejudiciais para a polinização, pois diminuem o volume de néctar disponível para os polinizadores, e ainda podem predar os ovários e impedir o desenvolvimento de frutos (Vieira *et al.* 1992, Carvalho *et al.* 2007, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009).

Entretanto, acredita-se que a retirada do néctar pelos pilhadores forçaria os polinizadores efetivos a visitarem um maior número de flores a fim de obter a quantidade de recurso necessária a sua sobrevivência e, consequentemente, realizarem um maior número de polinizações cruzadas (Gentry 1974b, Maloof 2001, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Os pilhadores ainda podem contribuir para o

aumento da taxa de polinizações cruzadas por serem territorialistas e agressivos, expulsando os polinizadores efetivos das plantas (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006).

A predominância de abelhas de médio e grande porte como polinizadores efetivos da família pode fazer com que ocorra uma competição pelos polinizadores entre as espécies de Bignoniaceae de uma mesma comunidade (Gentry 1980, 1990). Além disso, o grande número de espécies de Bignoniaceae que podem ocorrer em uma mesma comunidade também contribuirá para esse tipo de competição (Gentry 1980, 1990). Consequentemente, espécies que são simpátricas e possuem morfologia floral semelhante, necessitam de outras estratégias para evitar o compartilhamento de polinizadores e manter o isolamento reprodutivo da espécie. Uma dessas estratégias pode ser a ocorrência dos quatro diferentes padrões fenológicos de floração descritos para Bignoniaceae: *steady-state*, *big-bang*, *multiple-bang* e *cornucópia* (Gentry 1974a e b). Caso um mesmo padrão de floração ainda ocorra entre as espécies que compartilham polinizadores numa mesma comunidade, a separação sazonal entre a floração de diferentes espécies pode ocorrer (Gentry 1980, 1990).

2 - Hibridações

Os processos de hibridação e mudanças no número cromossômico que podem levar à especiação simpátrica são considerados raros para as espécies de Bignoniaceae (Gentry 1980, 1990). Embora ocorra certa sobreposição entre a floração de diferentes espécies polinizadas por abelhas numa dada comunidade (Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), cada espécie parece apresentar um nicho de polinização único (Gentry 1990, Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Zjhra 2008), evitando cruzamentos interespecíficos e a formação de híbridos. A presença de diferentes nichos de polinização numa mesma comunidade pode ser favorecida por incompatibilidades gênicas entre espécies filogeneticamente distantes. Como a especiação alopátrica é considerada predominante em Bignoniaceae, ela poderia justificar a coocorrência de espécies filogeneticamente distantes numa mesma comunidade (Gentry 1980, 1990). A quebra de barreiras geográficas com o contato secundário entre espécies congenéricas poderia, por outro lado, favorecer o fluxo gênico e hibridações entre estas espécies.

Embora hibridações e especiações simpátricas sejam consideradas raras na família, já foram registrados cruzamentos interespecíficos em casa de vegetação que deram origem a uma prole viável entre espécies dos gêneros *Catalpa*, *Chilopsis* e *Campsis* (Gentry 1990), e

em polinizações experimentais no campo entre espécies do gênero *Handroanthus*, *Tabebuia sensu strictu* (Bittencourt Júnior 2003) e *Anemopaegma* (Firetti 2009). Acredita-se que hibridações naturais também ocorram em espécies desses três gêneros, devido à observação de espécimes com morfologia intermediária, os quais geram uma série de complicações no tratamento taxonômico desses gêneros (Ferreira 1973, Gentry 1990, Gentry 1992, Firetti 2009). Tais complicações geralmente ocorrem em um pequeno grupo de espécies dentro de cada gênero, os quais são denominados complexos, como por exemplo, o complexo chrysotricha referente às espécies de *Handroanthus* (Paclt 1992) e o complexo arvense referente às espécies de *Anemopaegma* (Ferreira 1973, Firetti 2009). A ocorrência isolada dos híbridos também é observada em outros gêneros e famílias de Angiospermas (Ellstrand *et al.* 1996).

O contato entre espécies filogeneticamente próximas com distribuição alopátrica pode ter ocorrido, por exemplo, entre espécies de florestas tropicais úmidas e cerrado durante as transições entre os períodos glaciais e interglaciais, favorecendo o fluxo gênico entre elas (Sarmiento 1983, Morawetz 1986, Forni-Martins & Martins 2000, Carman 2007). A predominância de abelhas de médio e grande porte como os principais polinizadores efetivos de plantas arbóreas de mata e cerrado (Bawa *et al.* 1985, Oliveira & Gibbs 2000), corroboram a possibilidade de hibridações. Além disso, a ação antrópica que destrói barreiras geográficas e introduz espécies exóticas pode ser uma importante promotora de cruzamentos interespecíficos (Ellstrand & Schierenbeck 2000, Ellstrand 2003).

Indivíduos híbridos geralmente possuem dificuldades de pareamento cromossômico durante a meiose, de forma que frequentemente produzem gametas não reduzidos (Ramsey & Schemske 1998, 2002). Isso pode fazer com que os cruzamentos com espécies parentais produzam plantas triplóides, ou que no caso de espécies autoférteis, possam ser produzidos indivíduos diplóides, triplóides ou tetraplóides (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002). Os híbridos poliplóides (alopoliplóides), por sua vez, teriam uma maior facilidade no pareamento de cromossomos e poderiam estabelecer novas linhagens evolutivas (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002, Soltis *et al.* 2007), podendo levar à existência de características completamente novas que justifiquem o reconhecimento de novas espécies (Soltis *et al.* 2009).

3 - Evolução do número cromossômico

As espécies de Bignoniaceae apresentam predominantemente o número cromossômico de 2n=40 e x=20 (Tabela 1) (Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998), representando 72,1% das 122 espécies avaliadas, enquanto o número 2n=36 está presente em cerca de 12% das espécies. A hipótese de que os ancestrais das famílias atuais de angiospermas fossem hexaplóides, sugere que o número básico de cromossomos desses ancestrais estaria entre 6 ou 7 (Stebbins 1971), o que é confirmado pela grande redundância gênica das angiospermas, que evidencia ciclos de duplicação total do genoma (Soltis *et al.* 2009). Após os estudos de filogenia molecular terem colocado o gênero *Jacaranda*, com o número cromossômico constante de 2n=36 (Tabela 1), juntamente a *Digomphia*, de número cromossômico desconhecido, constituindo a tribo Jacarandeae, a mais basal da família (Spangler & Olmstead 1999, Olmstead *et al.* 2009), a evolução do número cromossômico em Bignoniaceae pode ser melhor compreendida. Como as análises do número cromossômico de outras famílias da ordem Lamiales também mostram a presença de espécies com 2n=36 (*Index to plant chromosome numbers*), é possível que os eventos de poliploidização ocorridos no passado sejam compartilhados pelo ancestral da ordem, que teria um número básico de x=6.

Os grupos mais basais do grupo "core" das Bignoniaceae, Tourrettieae, *Argylia*, Tecomeae *sensu strictu*, e *Delostoma*, apresentam uma ampla distribuição geográfica e diferentes formas de vida (ervas, lianas, arbustos e árvores) (Olmstead *et al.* 2009), o que pode estar relacionado à variabilidade no número de cromossomos encontrada nas suas espécies (ver Tabela 1: 2n=22, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 48), embora eupoliploidizações estejam ausentes. Embora a posição de Oroxyleae, constituída de árvores e lianas, ainda esteja um pouco incerta, é possível que ela também seja filogeneticamente próxima desses grupos (Olmstead *et al.* 2009). Esses clados devem representar um estagio de transição, onde pequenas perdas e ganhos aneuplóides de alguns pares de cromossomos foram constantes, até que houvesse uma real estabilização do número 2n=40 na família. O grupo que engloba o clado das Crescentiina e Catalpeae, caracterizado por plantas arbóreas e arbustivas, e das Bignonieae, composta principalmente por lianas e poucos arbustos (Olmstead *et al.* 2009), parece ser onde o número cromossômico de 2n=40 se estabilizou. A estabilização deste número cromossômico pode ter sido vantajosa e favorecido uma maior diversificação de suas espécies. As poucas variações observadas nesses grupos estão geralmente associadas a espécies cultivadas, como *Crescentia cujete* e *Spathodea campanulata* (Tabela 1).

Embora considerados raros na família (Gentry 1980), foram observados eventos de poliploidização onde ocorre a duplicação total do genoma em 6,6% das espécies já estudadas.

As poliploidizações recentes, ou seja, após a estabilização do número 2n=40, foram observadas em *Handroanthus chrysotrichus* (Piazzano 1998), *Anemoapegma acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum* (Firetti 2009), com 2n=80. Além dessas espécies que parecem ter o número cromossômico tetraplóide constante, também foram observados casos de espécies que, além de apresentarem o citótipo poliplóide, também apresentam citótipos diplóides: *Dolichandra unguis-cati*, com 2n=40 (Venkatasubban 1945, Simmonds 1954) e 2n=80 (Venkatasubban 1945, Bowden 1940, 1945, Piazzano 1998), *Jacaranda mimosifolia*, com 2n=36 (Mehra & Bawa 1969, Piazzano 1998) e 2n=66 (Pathak *et al.* 1949) e *Pyrostegia venusta*, com 2n=40 (Piazzano 1998) e 2n=60 (Joshi & Hardas 1956 *apud* Goldblatt & Gentry 1979). A presença de diferentes citótipos nestas espécies indica que outras espécies poliplóides possam ocorrer, mas que apenas seus citótipos diplóides sejam conhecidos. A ocorrência de citótipos diplóides e tetraplóides em diferentes populações pode indicar que os tetraplóides tenham se dispersado de suas populações de origem e se estabelecido em novos habitats (Stebbins 1971, Levin 2002).

Já a presença do citótipo triplóide, observado em *P. venusta*, pode indicar um processo de poliploidização em curso na população analisada, que possa ou não estar relacionado aos eventos de hibridação (Ramsey & Schemske 1998, Levin 2002, Soltis *et al.* 2007). A produção de gametas não reduzidos numa determinada planta em decorrência de erros meióticos vinculados ou não à condição híbrida propicia a união desses gametas entre si ou com gametas reduzidos, e culmina na produção de plantas triplóides e tetraplóides (Ramsey & Schemske 1998, 2002). Os triplóides podem produzir gametas haplóides e diplóides que também podem originar linhagens tetraplóides se cruzarem com gametas não reduzidos de outras plantas ou, mais provavelmente, se puderem realizar autofecundação (Ramsey & Schemske 1998, 2002). Embora a ocorrência de erros meióticos e poliploidizações também sejam reportados para plantas sem relatos de hibridação, formando os autopoliplóides (Soltis *et al.* 2007, 2009), tais erros são muito mais comuns entre híbridos e formam os alopoliplóides (Stebbins 1971, Levin 2002).

As poliploidizações, principalmente as alopoliploidizações, parecem estar relacionadas a modificações no sistema reprodutivo das plantas, como a quebra de um sistema de autoincompatibilidade (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Alem & Hiscock 2008) e o favorecimento da expressão da apomixia (Carman 1997, 2007). Os alopoliplóides, por possuírem uma grande variabilidade genética, ainda poderiam evitar a expressão de alelos recessivos deletérios e terem mais chances de se estabelecer como espécies autoférteis que os

autopoliplóides (Stebbins 1971, Barringer 2007, Husband *et al.* 2008).

4 - Sistemas reprodutivos

Das 54 espécies de Bignoniaceae em que o sistema reprodutivo foi investigado, 77,8% são estritamente autoestéreis (Tabela 1). Diversos resultados indicam que a autoesterilidade esteja submetida ao controle gênico de algum tipo de sistema de autoincompatibilidade (Amaral 1992, Gibbs 1990, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bianchi *et al.* 2005, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006, Vikas *et al.* 2009).

4.1- Os sistemas de autoincompatibilidade - Os sistemas de autoincompatibilidade são geralmente controlados por um ou mais locus gênicos multialélicos que são responsáveis por reconhecer e impedir o desenvolvimento do pólen da mesma planta, ou de indivíduos aparentados, que chega ao pistilo (Richards 1986, Gibbs 1990, Alem & Hiscock 2008). Os sistemas de autoincompatibilidade podem ser homomórficos, onde todas as flores de uma mesma espécie e numa mesma população possuem a mesma morfologia, ou heteromórficos, onde apenas plantas que possuem flores de morfologia distinta são interférteis, impedindo o cruzamento entre irmãos (Richards 1986, Gibbs 1990, Alem & Hiscock 2008). Como se desconhece a existência de flores heteromórficas em Bignoniaceae, apenas os sistemas homomórficos serão apresentados.

Num sistema de autoincompatibilidade o grão de pólen pode expressar o alelo do gametófito masculino através de substâncias liberadas pelo tubo polínico, que serão reconhecidas no estigma ou estilete do pistilo e assim irão provocar a rejeição do auto pólen, constituindo o sistema de autoincompatibilidade gametofítico (GSI) (Heslop-Harrison & Heslop-Harrison 1973, Heslop-Harrison *et al.* 1975, Richards 1986, Gibbs 1990, Alem & Hiscock 2008). No GSI os grãos de pólen germinam e os tubos polínicos normalmente têm seu desenvolvimento interrompido no estilete (Richards 1986, Gibbs 1990, Alem & Hiscock 2008).

O grão de pólen ainda pode expressar os dois alelos da planta esporofítica doadora de pólen na superfície de sua parede, através do depósito de substâncias realizado pela camada mais interna do microsporângio, o tapete (Heslop-Harrison & Heslop-Harrison 1973, Heslop-Harrison *et al.* 1975). Essas substâncias são liberadas assim que o grão de pólen toca o estigma, sendo reconhecidas pelo pistilo neste mesmo local (Heslop-Harrison & Heslop-

Harrison 1973, Heslop-Harrison *et al.* 1975). Como ocorre a expressão dos dois alelos da planta esporofítica doadora de pólen, este constitui o sistema de autoincompatibilidade esporofítico (SSI) (Richards 1986, Gibbs 1990, Alem & Hiscock 2008). No SSI a maioria dos grãos de pólen não chega a germinar, pois as substâncias produzidas pela planta doadora de pólen e expressas na parede do grão de pólen permitem uma reação de incompatibilidade mais rápida que a do GSI (Richards 1986, Gibbs 1990, Alem & Hiscock 2008).

Outro sistema de autoincompatibilidade é dito de ação tardia (LSI), pois os tubos polínicos germinam e atingem o ovário (Seavey & Bawa 1986, Sage *et al.* 1994). Em muitos casos os tubos polínicos podem penetrar óvulos, realizar a dupla fecundação e até mesmo promover o desenvolvimento inicial de zigoto e endosperma, entretanto, os pistilos de autopolinizações são abortados nos estágios iniciais de desenvolvimento (Seavey & Bawa 1986, Sage *et al.* 1994, Bittencourt Júnior 2003, Allen & Hiscock 2008). Esse sistema parece ocorrer prioritariamente em plantas arbóreas de hábito perene (Allen & Hiscock 2008), pois como estas geralmente produzem um número de flores bem maior que sua capacidade de produzir frutos, elas só realizam a seleção pelos pistilos de polinizações cruzadas compatíveis durante o desenvolvimento do fruto (Oliveira 1998). Embora este sistema gere um desperdício de óvulos (Sage *et al.* 1994, Allen & Hiscock 2008), isso provavelmente não afeta o sucesso reprodutivo da planta, já que as espécies perenes podem ter uma prole reduzida em determinadas estações reprodutivas, mas são capazes de compensá-la numa próxima estação, diferentemente das plantas anuais (Oliveira 1998, Bianchi *et al.* 2005).

Embora a ação do LSI possa ser semelhante à de um processo de depressão endogâmica de ação precoce quanto ao aborto dos pistilos após a fecundação ou após o desenvolvimento do embrião e do endosperma, acredita-se que realmente exista um sistema genético de rejeição do pistilo autopolinizado, ou mesmo fecundado nos casos de LSI (Seavey & Bawa 1986, Sage *et al.* 1994, Bittencourt Júnior 2003). O aborto uniforme de pistilos autopolinizados nos estágios iniciais de desenvolvimento corrobora a ocorrência do LSI, pois seria de se esperar que na atuação da depressão endogâmica o aborto dos pistilos pudesse ocorrer em diferentes estágios do desenvolvimento (Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior *et al.* 2003). Além disso, um dos argumentos a favor da existência do LSI é a concentração desse sistema em determinadas famílias de angiospermas, como por exemplo, as Bignoniaceae, indicando que esta seja uma característica determinada geneticamente (Gibbs 1990, Gibbs & Bianchi 1999, Bianchi *et al.* 2005, Allen & Hiscock 2008).

Na família Bignoniaceae, as 28 espécies nas quais o sistema reprodutivo foi estudado e

o crescimento de tubo polínico observado após as polinizações experimentais apresentaram LSI (Tabela 1). Tanto os grãos de pólen de autopolinizações como os de polinizações cruzadas germinam e seus tubos polínicos foram capazes de crescer até o ovário, penetrar óvulos (Bertin & Sullivan 1988, Vieira *et al.* 1992, Amaral 1992, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, James & Knox 1993, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006, Vikas *et al.* 2009), realizar a dupla fecundação e iniciar o desenvolvimento do zigoto e do endosperma (Gibbs & Bianchi 1993, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006). Entretanto, os pistilos de autopolinizações são abortados de maneira uniforme nos estágios iniciais de desenvolvimento do fruto, indicando que um mecanismo de ação tardia controlado geneticamente possa estar ocorrendo e levando ao aborto dos pistilos autopolinizados nesta família (Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006).

4.2 - Quebra no sistema de autoincompatibilidade - Além da evolução da estrutura floral (Crepet & Niklas 2009), do endosperma triplóide (Friedman *et al.* 2008) e dos ciclos de poliploidização genômica (Soltis *et al.* 2009), o estabelecimento dos sistemas de autoincompatibilidade parece ter sido um fator chave para a rápida diversificação das angiospermas (Allen & Hiscock 2008). Entretanto, a perda do sistema de autoincompatibilidade é comum em grandes famílias, onde se observa uma mistura de linhagens autoincompatíveis e autocompatíveis (Allen & Hiscock 2008). A transição do sistema de autoincompatibilidade para a autocompatibilidade é considerada um dos caminhos mais comuns na evolução dos sistemas reprodutivos das angiospermas, e pode ser favorecida em situações nas quais a polinização cruzada possa ser dificultada (Good-Avila *et al.* 2008, Allen & Hiscock 2008). Embora a transição de autocompatibilidade para autoincompatibilidade seja considerada muito mais rara (Igic *et al.* 2008), uma revisão recente sobre a evolução dos sistemas reprodutivos em angiospermas mostra que os sistemas de autoincompatibilidade podem ter evoluído novamente em diversos grupos de plantas (Allen & Hiscock 2008).

Entre as Bignoniaceae, quatorze espécies, ou 25,9% daquelas investigadas quanto ao sistema reprodutivo, apresentaram indivíduos ou populações autoférteis, são elas: *Amphilophium elongatum* (Ynagizawa & Gottsberger 1983), *Astianthus viminalis* (Bullock 1985), *Pyrostegia venusta* (Gobatto-Rodrigues & Stort 1992), *Tecoma stans* (Dutra & Machado 2001), *Handroanthus chrysotrichus*, *H. heptaphyllus* (Bittencourt Júnior & Semir

2005), *Incarvillea sinensis* (Qu *et al.* 2007) *Fridericia platyphylla*, *F. samydoides*, *Jacaranda oxyphylla* (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), *Anemopaegma arvense*, *A. acutifolium*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum* (Firetti 2009) (Tabela 1). Embora estes casos chamem a atenção por serem registrados numa família prioritariamente autoincompatível, a evolução da autofertilidade ainda é pouco conhecida e discutida para as Bignoniaceae. Apenas em *H. chrysotrichus* parece que a autofertilidade pode ser decorrente de apomixia esporofítica (Bittencourt Júnior & Semir 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), mas não pode ser associada a este caráter para as outras espécies autoférteis da família (Bittencourt Júnior & Semir 2005). Embora as espécies autoférteis de *Anemopaegma* também sejam poliembriônicas (Firetti 2009), o que frequentemente é um indicativo de apomixia esporofítica (Asker & Jerling 1992, Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003, Whitton *et al.* 2008), ainda não se sabe qual é a origem dos embriões supranumerários.

As mutações gênicas em um ou mais locus responsáveis pelo controle dos sistemas de autoincompatibilidade podem interferir no processo de rejeição do pólen próprio e podem ser fixadas por fatores ecológicos importantes (de Nettancourt 1977, Igic *et al* 2008). O estabelecimento de populações autoférteis através da fixação de mutações gênicas pode ser estimulado pela ausência de polinizadores efetivos capazes de realizar polinizações cruzadas ou à ausência de indivíduos próximos para que a polinização possa ocorrer (Richards 1986, Igic *et al.* 2008). Entretanto, na maioria das vezes, as espécies autoférteis continuam com elevadas taxas de fecundação cruzada, de forma que a evolução para um sistema misto, ou seja, no qual autofecundações e fecundações cruzadas são permitidas, pode ser a alternativa mais vantajosa (Good-Avila *et al.* 2008).

Os processos de poliploidização também podem causar a quebra dos GSI (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002, Pannel *et al*. 2004, Barringer 2007). As poliploidizações em plantas têm origem em erros meióticos que levam à produção de gametas não reduzidos na população, podendo, um mesmo poliplóide, surgir repetidas vezes ao longo da evolução (Stebbins 1971, Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002). No caso de poliplóides os grãos de pólen diplóides parecem incapazes de expressar o fenótipo que provoca sua rejeição no pistilo, enquanto este continua capaz de reconhecer e inibir o crescimento de tubos polínicos incompatíveis (de Nettancourt 1977, Richards 1986). A estabilização da autofertilidade nessas plantas pode ainda ser favorecida pela condição alopoliplóide, que pela sua elevada variabilidade genética impede a expressão da depressão endogâmica (Barringer 2007, Husband *et al.* 2008), além de ser uma forma de os híbridos

poliplóides conseguirem obter sucesso na reprodução sexuada e se estabelecerem no ambiente (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Barringer 2007, Husband *et al.* 2008).

4.2.1 - Quebra no sistema de autoincompatibilidade de espécies diplóides- *Handroanthus heptaphyllus*, *Incarvillea sinensis* e *Tecoma stans* são casos onde a autofertilidade não parece estar relacionada à ocorrência de poliploidizações, embora as análises de sistema reprodutivo e de número cromossômico não tenham sido realizadas na mesma população para cada uma das espécies (Tabela 1). *Incarvillea sinensis* é uma planta herbácea que foi estudada em regiões semi-áridas (Qu *et al.* 2007), o que corrobora que este tipo de estratégia reprodutiva seja adotado preferencialmente pelas plantas deste estrato vegetacional (Barbosa & Sazima 2008, Barriger 2007). Como *Tecoma stans* é amplamente cultivada (Gentry 1992), a disseminação de genótipos muito semelhantes poderia ser restritiva ao desenvolvimento de frutos de polinizações cruzadas entre irmãos, selecionando os indivíduos autoférteis. A investigação do sistema reprodutivo dessa espécie em áreas de ocorrência nativa poderia revelar se existem populações autoestéreis de *T. stans* e corroborar esta hipótese. No caso de *H. heptaphyllus*, um dos indivíduos estudados por Bittencourt Júnior & Semir (2005) foi autofértil e, ainda que apenas três indivíduos cultivados tenham sido testados, não se pode descartar a possibilidade do caráter autofértil ocorrer em outros indivíduos ou populações dessa espécie.

Amphilophium elongatum, *Astianthus viminalis*, *Fridericia platyphylla*, *F. samydoides* e *Jacaranda oxyphylla* são espécies autoférteis que ainda não tiveram o número cromossômico investigado (Tabela 1). No caso de uma das populações analisadas de *Jacaranda oxyphylla*, a porcentagem de frutos desenvolvidos por autopolinizações foi muito reduzida, podendo ser explicada pela contaminação do auto pólen com uma pequena carga de pólen cruzado durante o experimento de autopolinização manual (Guimarães *et al.* 2008). Por outro lado, como a visitação por polinizadores efetivos, bem como o número de plantas que florescem simultaneamente são reduzidos nesta população (Guimarães *et al.* 2008), indivíduos autoférteis poderiam estar sendo selecionados. Embora uma elevada taxa de visitação por abelhas tenha sido encontra em espécies autoférteis de *F. platyphylla* e em outra população de *J. oxyphylla*, onde a seleção de autofertilidade pode ocorrer devido à presença de *ramets*. A ocorrência de *ramets* é comum entre as espécies subarbustivas com sistema subterrâneo desenvolvido (Santos 2008), promovendo uma distribuição agrupada (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007) e um elevado número de autopolinizações.

4.2.2 - Quebra no sistema de autoincompatibilidade de espécies poliplóides- A poliploidia verificada em *Pyrostegia venusta* (Joshi & Hardas 1956 *apud* Goldblatt & Gentry 1979), *Handroanthus chrysotrichus* (Piazzano 1998), *Anemopaegma arvense*, *A. acutifolium*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum* (Firetti 2009) poderia justificar a quebra do LSI observada nestas espécies (Tabela 1). Embora as quebras do sistema de autoincompatibilidade acarretadas por poliploidização tenham sido reportadas apenas para espécies com GSI (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002), essas observações em Bignoniaceae predominantemente LSI, podem corroborar a ideia de um controle gênico semelhante ao do GSI para este tipo de autoincompatibilidade (Richards 1986, Sage *et al.* 1994, Allen & Hiscock 2008).

Algumas evidências de poliploidizações decorrentes de hibridações (alopoliploidizações) já foram apresentadas para os gêneros *Handroanthus* e *Anemopaegma* nas discussões sobre *Hibridações* e *Evolução do número cromossômico* em tópicos anteriores. O gênero *Pyrostegia*, por sua vez, possui apenas duas espécies, *P. venusta* e *P. millingtonioides* Sandwith, sendo a última de distribuição muito restrita (Lohmann, no prelo) e fazendo com que a autopoliploidização seja muito mais provável que a alopoliploidização em *P. venusta*. As espécies de *Handroanthus* e *Anemopaegma* supracitadas não apresentam relatos de populações diplóides ou autoestéreis, entretanto, diferentes estudos com *Pyrostegia venusta* demonstraram que esta espécie apresenta populações autoférteis (Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Sampaio & Almeida 1995), diplóides (Piazzano 1998) ou poliplóides (Joshi & Hardas 1956 *apud* Goldblatt & Gentry 1979). Dessa forma, investigações concomitantes acerca do sistema reprodutivo e do número cromossômico nas diferentes populações de *P. venusta* e nas demais espécies que apresentam variações no sistema de autoincompatibilidade ou no número diplóide de cromossomos poderiam reforçar a hipótese da autofertilidade ser decorrente da poliploidia em algumas espécies de Bignoniaceae.

As espécies poliplóides ocorrem preferencialmente dentre as plantas herbáceas perenes, sendo menos frequentes entre as anuais (Stebbins 1971, Levin 2002). Essa tendência é explicada pelas linhagens poliplóides dependerem de condições especiais para sua sobrevivência nos seus estágios iniciais, como a ocorrência de reprodução vegetativa através de órgãos subterrâneos, que permitam sua estabilização no meio ambiente mesmo quando a reprodução sexuada não for possível (Stebbins 1971). No caso das plantas arbóreas perenes, o ciclo de vida mais longo e a apomixia (Morawetz 1986) podem promover a estabilização dos

poliplóides, embora plantas arbóreas também possam apresentar rebrotamento a partir de órgãos subterrâneos (Appezzato-da-Glória 2003).

Morawetz (1986) observou que espécies de cerrado tendem a apresentar mais poliplóides que as espécies congenéricas de mata. Como o Cerrado é caracterizado por apresentar regimes de fogo relativamente frequentes, as espécies arbóreas deste bioma possuem cascas grossas, e as subarbustivas e herbáceas perenes, que têm sua parte aérea totalmente destruída durante as queimadas, apresentam órgãos subterrâneos como rizomas, bulbos e xilopódios, que viabilizam o rebrotamento vigoroso após as queimadas (Hoffmann 2000, Miranda *et al.* 2002, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006). A capacidade de reprodução vegetativa das plantas do Cerrado permitiria que poliplóides pudessem se estabelecer no ambiente enquanto a reprodução sexuada não fosse estabilizada (Morawetz 1986). Além disso, a maior frequência de poliplóides no Cerrado, bem como em elevadas latitudes e altitudes (Stebbins 1971, Morawetz 1986, Levin 2002) pode ocorrer devido aos poliplóides, especialmente os alopoliplóides, se adaptarem melhor às condições extremas que as espécies diplóides correlatas (Stebbins 1971, Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Ellstrand & Schierenbeck 2000, Levin 2002, Hotchkiss *et al.* 2008).

As espécies subarbustivas de Bignoniaceae típicas de cerrado mostram-se capazes de desenvolver sistemas subterrâneos muito vigorosos, capazes de efetuar rebrotamentos constantes, e que muitas vezes ocorrem anualmente e fazem parte do ciclo de vida da planta (Gentry 1980, 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Santos 2008). Embora o processo de rebrotamento seja mais frequente em plantas subarbustivas, pode estar presente em lianas, subarbustos e árvores, sendo importante ao estabelecimento e manutenção das espécies perenes em áreas que estão sujeitas, por exemplo, a um regime de fogo constante, à pressão de pastagens ou à ação antrópica (Stebbins 1971, Appezzato-da-Glória 2003, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006).

4.3- Apomixia **-** Além da quebra do sistema de autoincompatibilidade, outra variação importante no sistema reprodutivo de Bignoniaceae é a ocorrência da apomixia esporofítica, já constatada para *Handroanthus ochraceus* (Costa *et al.* 2004) e *H. chrysotrichus* (Souza *et al.* 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). O termo apomixia é comumente empregado para designar a reprodução assexuada por meio de sementes (Asker & Jerling 1992, Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003). Os mecanismos de apomixia podem ser divididos em gametofíticos e esporofíticos, e embora a apomixia esporofítica esteja mais

amplamente difundida dentre as angiospermas, os estudos sobre este fenômeno se concentram sobre as espécies com apomixia gametofítica (Asker & Jerling 1992, Carman 1997, Richards 2003, Whitton *et al.* 2008). A predominância de estudos com a apomixia gametofítica pode ocorrer devido à apomixia esporofítica ocorrer principalmente em plantas tropicais ou subtropicais, além de a apomixia gametofítica poder ter maior importância econômica entre as plantas cultivadas (Asker & Jerling 1992).

Dentre os mecanismos gametofíticos, a diplosporia resulta no desenvolvimento da célula mãe do megásporo em megagametófito não reduzido pela supressão da meiose ou por uma meiose restitucional, originando um embrião diplóide através do desenvolvimento partenogenético da oosfera (Asker & Jerling 1992, Koltunow & Grossniklaus 2003, Whitton *et al.* 2008). É nos casos de diplosporia que se encontra a total esterilidade masculina, o que ocorre pela completa independência na produção da semente, incluindo embrionia e endospermia autônomas (Richards 1986, Asker & Jerling 1992). Esse caráter pode levar a um menor gasto de energia na produção do pólen, mas interfere negativamente na variabilidade genética da espécie (Whitton *et al.* 2008). Já a aposporia está relacionada ao desenvolvimento de megagametófitos não reduzidos a partir de células do nucelo diferentes da célula mãe do megásporo (Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003, Whitton *et al.* 2008). Isso permite que a célula mãe do megásporo possa dividir-se normalmente e originar um megagametófito reduzido ao lado de um não reduzido, produzindo um embrião sexual e um assexual e partenogenético que se desenvolve a partir da oosfera diplóide do megagametófito não reduzido, o que pode resultar numa semente poliembriônica (Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003).

A apomixia esporofítica também é conhecida como embrionia adventícia, e é um mecanismo no qual a formação de embriões adventícios a partir de células somáticas do óvulo ocorre concomitantemente a um megagametófito reduzido, de forma que a reprodução sexual e a apomixia possam coexistir numa mesma semente (Asker & Jerling 1992, Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003, Whitton *et al.* 2008). Esse mecanismo geralmente resulta em elevadas porcentagens de sementes poliembriônicas e elevado número de embriões por semente, podendo combinar a ocorrência de vários embriões clonais e do embrião zigótico numa mesma semente (Asker & Jerling 1992, Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003, Whitton *et al.* 2008). Em alguns casos, uma combinação de apomixia gametofítica e esporofítica ainda pode ocorrer numa mesma planta (Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003).

Embora a apomixia seja conhecida como uma forma de produzir sementes assexuadamente, plantas com aposporia e com apomixia esporofítica na maioria dos casos não são capazes de produzir um endosperma autônomo, sendo consideradas pseudogâmicas, ou seja, possuem a necessidade da polinização e da fecundação dos núcleos polares para o desenvolvimento do endosperma e consequentemente dos embriões (Richards 1986, 2003, Asker & Jerling 1992, Whitton *et al.* 2008). Nesses casos, a oosfera pode ser fecundada e originar um zigoto que se desenvolverá concomitantemente aos embriões assexuados (Asker & Jerling 1992, Batygina 1999a e b, Richards 2003, Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003, Whitton *et al.* 2008), aumentando a variabilidade genética intrapopulacional e podendo favorecer a adaptabilidade da espécie a uma maior gama de condições ambientais (Batygina 1999a e b, Crepet & Niklas 2009).

Dessa forma, a ocorrência de uma elevada frequência de sementes poliembriônicas pode ser um bom indicativo da ocorrência de apomixia, principalmente de aposporia e apomixia esporofítica. As espécies apomíticas de Bignoniaceae, *Handroanthus ochraceus* e *H. chrysotrichus*, foram inicialmente constatadas como poliembriônicas (Piazzano 1998, Salomão & Allem 2001) e depois foi verificada a origem adventícia dos embriões supranumerários (Costa *et al.* 2004, Souza *et al.* 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). A poliembrionia também já foi detectada em *Handroanthus serratifolius*, *Tabebuia roseo-alba*, *Jacaranda cuspidifolia* (C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados), *Anemopaegma chamberlaynii* (Correia *et al.* 2005a), *A. acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum* (Firetti 2009). Embora a poliembrionia seja um indicativo da ocorrência de apomixia, quando esta ocorre em baixas frequências (< 5% de sementes poliembriônicas), como foi observado para *Anemopaegma chamberlaynii* (Correia *et al.* 2005a), *Tabebuia roseo-alba* e *Jacaranda cuspidifolia*, esta relação é incerta. A ocorrência esporádica de poliembrionia pode ser acarretada por eventos não usuais, tais como a produção de mais de um megagametófito reduzido em um mesmo óvulo (Carmo-Oliveira 1998, C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados) ou a clivagem de embriões sexuados, sem relação com o processo de apomixia (C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados). A análise de outras populações de *T. roseo-alba* e *J. cuspidifolia* constatou a ocorrência de sementes estritamente monoembriônicas, confirmando que a presença de sementes poliembriônicas deve ser um evento isolado (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). Por outro lado, as elevadas frequências de sementes poliembriônicas observadas para *Handroanthus serratifolius* (C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados), *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense*, *A.*

glaucum e *A. scabriusculum* (Firetti 2009), provavelmente estão relacionadas à ocorrência da apomixia esporofítica.

4.3.1- Apomixia e poliploidia **-** Em espécies com apomixia gametofítica, a expressão da apomixia ocorre quase sempre em espécies ou populações poliplóides (Asker & Jerling 1992, Richards 1986, Carman 1997, 2007, Whitton *et al.* 2008). Embora a apomixia esporofítica também seja encontrada em alguns poliplóides, como em *Handroanthus chrysotrichus* (Piazzano 1998, Souza *et al.* 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) e nas Malvaceae *Pachira oleaginea* Decne. (Baker 1960) e *Eriotheca pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott. & Endl. (Oliveira *et al.* 1992, Forni-Martins *et al.* 1995, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), ela ocorre predominantemente em espécies diplóides (Whitton *et al.* 2008). Nesses grupos, as características séries de poliplóides observadas nos complexos agâmicos gametofíticos parecem não ser formadas (Asker e Jerling 1992).

Como existe uma concordância de que a poliploidia está intimamente relacionada à apomixia gametofítica (Richards 1986, Asker e Jerling 1992, Carman 1997, Whitton *et al.* 2008), as espécies apomíticas registradas como diplóides podem ter passado por paleopoliploidizações que duplicaram os genes que causam a apomixia, permitindo uma expressão ocasional desse fenômeno (Carman 1997, 2007). Alopoliploidizações seriam necessárias à expressão da apomixia, pois a combinação de dois genomas distintos levaria à expressão assincrônica dos genes que controlam a megaesporogênese, megagametogênese e o desenvolvimento do embrião e do endosperma (Carman 1997, 2007). A expressão assincrônica dos genes, por sua vez, necessita que ocorra a duplicação genômica (Carman 1997, 2007), que é um evento frequente entre os híbridos (Ramsey & Schemske 1998, 2002). A hipótese da expressão assincrônica de genes duplicados está sendo confirmada com a verificação da assincronia nos eventos que ocorrem no óvulo entre espécies consideradas parentais dos apomíticos (Carman 2007). Essa hipótese também poderia explicar a ocorrência de apomixia esporofítica em plantas poliplóides (Carman 2007), e investigações histológicas poderiam ajudar na compreensão do fenômeno nessas espécies.

A poliploidia de *Handroanthus chrysotrichus* (Piazzano 1998), *Anemopaegma acutifolium, A. arvense, A. glaucum* e *A. scabriusculum* (Firetti 2009), além de poder ser a chave para a quebra do sistema de autoincompatibilidade nessas espécies (Bittencourt Júnior & Semir 2005, Firetti 2009), também pode ser o fator que promove a expressão da apomixia. A ocorrência de hibridações que levem à alopoliploidia parece viável nos gêneros

Handroanthus e *Anemopaegma* que, como mencionado anteriormente, são capazes de produzir frutos em cruzamentos interespecíficos e apresentam conhecidas formas intermediárias que podem ser resultado de hibridações (Ferreira 1973, Gentry 1992, Firetti 2009). Entretanto, *H. ochraceus*, que também possui apomixia esporofítica (Costa *et al.* 2004), apresenta populações diplóides (Guerra & Natera 2007), autoférteis ou autoincompatíveis (Gibbs & Bianchi 1993, Barros 2001). A presença de populações com diferentes sistemas reprodutivos em *H. ochraceus* pode indicar a existência de diferentes citótipos, diplóides e poliplóides, que façam parte de complexos agâmicos poliplóides em espécies apomíticas esporofíticas.

Embora *Pyrostegia venusta* também possua populações poliplóides (Joshi & Hardas 1956 *apud* Goldblatt & Gentry 1979) e populações autoférteis (Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Sampaio & Almeida 1995), ela não apresenta registros de poliembrionia. Isto indica que, se existem embriões adventícios, eles talvez não cheguem à maturidade. É possível ainda que esta espécie apresente outro tipo de apomixia, ou que, mais provavelmente, as poliploidizações por si só sejam capazes de quebrar o sistema de autoincompatibilidade, mas não de promover a expressão da apomixia (Carman 1997). A provável origem autopoliplóide deste grupo poderia explicar a ausência de apomixia devido a esta aparentemente precisar da expressão assincrônica de genes duplicados que interfiram nos processos embriológicos para que possa ser expressa (Carman 2007).

4.3.2- Implicações da apomixia e da poliploidia - A apomixia pode facilitar a propagação e colonização de habitats e representar uma chance de sobrevivência para indivíduos com problemas para realizar a reprodução sexual, frequentes em híbridos e poliplóides (Stebbins 1971, Asker e Jerling 1992, Levin 2002, Richards 2003, Whitton *et al.* 2008). Pode ser vantajosa ainda em casos de carência do agente polinizador, onde tanto polinização cruzada quanto autopolinização podem estar comprometidas. Em casos que a ocorrência de autopolinizações seja favorecida, a apomixia, que geralmente ocorre em alopoliplóides, é capaz de manter a heterozigozidade dos ancestrais e evitar a depressão endogâmica (Richards 2003, Allem 2004). Assim, os apomíticos teriam a capacidade de fixar e disseminar genótipos extremamente bem adaptados de seus ancestrais (Richards 1986, Allem 2004), o que justificaria o fato dos apomíticos possuírem uma distribuição geográfica muito mais ampla que a de seus parentais diplóides (Asker e Jerling 1992, Richards 1986, Whitton *et al.* 2008). A presença de caracteres extremos pode fazer com que os apomíticos

alopoliplóides se adaptem a novos habitats e efetuem um rápido processo de colonização, fazendo com que sejam considerados plantas daninhas ou plantas de ambientes abertos, transitórios ou instáveis (Richards 1986, Ellstrand & Schierenbeck 2000, Abbott *et al.* 2003, Riseberg *et al.* 2003, Hotchkiss *et al.* 2008).

As espécies parentais sexuadas dos apomíticos são geralmente autoestéreis, enquanto os apomíticos são normalmente autoférteis (Asker e Jerling 1992, Whitton *et al.* 2008). A autoincompatibilidade pode favorecer os cruzamentos interespecíficos na natureza e, associada à condição perene e a alguma forma de reprodução vegetativa, pode auxiliar no estabelecimento de híbridos (Ellstrand & Schierenbeck 2000). A rápida poliploidização desses híbridos, por sua vez, poderá propiciar a ocorrência de plantas autoférteis e apomíticas que permitirão a manutenção do híbrido e o desenvolvimento de novas linhagens evolutivas (Ramsey & Schemske 1998, 2002). Embora algumas famílias concentrem um grande número de espécies apomíticas, nem todas as espécies dessas famílias teriam a capacidade de tornarem-se apomíticas (Ellstrand *et al.* 1996), seja pelo fluxo gênico inviável entre as suas espécies ou por grandes semelhanças na biologia reprodutiva das espécies parentais de híbridos (Carman 2007).

A presença de apomixia esporofítica com o consequente desenvolvimento de embriões adventícios poderia, teoricamente, promover o desenvolvimento de frutos através de autopolinizações em plantas que originalmente apresentassem um LSI (Oliveira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2005), como *Handroanthus ochraceus* (Gibbs & Bianchi 1993, Barros 2001). O LSI permite a ocorrência da dupla fecundação e o desenvolvimento inicial do endosperma antes que o pistilo autopolinizado seja abortado em Bignoniaceae (Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006), tempo que pode ser suficiente para que as células precursoras de embriões adventícios iniciem o seu desenvolvimento (Costa *et al.* 2004, Bittencourt Júnior, dados não publicados). O desenvolvimento dos embriões adventícios impediria o aborto do fruto autopolinizado (Oliveira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2005), podendo, inclusive, permitir o desenvolvimento do embrião zigótico, desde que esse não sofra os efeitos da depressão endogâmica, já que o endosperma se desenvolve normalmente (Costa *et al.* 2004, Bittencourt Júnior, dados não publicados). A manifestação da depressão endogâmica tanto no endosperma como no embrião zigótico ainda poderia ser suprimida devido à alopoliploidia, que garantiria uma maior viabilidade às sementes autofecundadas (Richards 1986, Barringer 2007, Husband *et al.* 2008). Como a poliploidia também pode gerar autofertilidade na ausência de apomixia

(de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002, Pannell *et al.* 2004, Barringer 2007), como parece ocorrer em *Pyrostegia venusta* (Tabela 1), não se pode afirmar com certeza se a autofertilidade em espécies alopoliplóides com apomixia esporofítica é promovida pela pseudogamia ou pela poliploidia (Allem 2004).

5 - Conclusões e perspectivas

O sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) foi confirmado em 51,8% das espécies de Bignoniaceae investigadas quanto ao sistema reprodutivo (Tabela 1), e acredita-se que aquelas espécies que possuem um sistema de autoincompatibilidade, mas que não tiveram o sítio de atuação desse sistema identificado, 25,9% das espécies, também possam apresentar um LSI (Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003, Bianchi *et al.* 2005). As principais variações observadas no sistema reprodutivo das Bignoniaceae consistem em autofertilidade e apomixia (Tabela 1), com três alternativas possíveis ao LSI:

1) autofertilidade em espécies diplóides;

2) autofertilidade em espécies poliplóides;

3) autofertilidade em espécies poliplóides com ocorrência de apomixia esporofítica.

Embora apenas 19,9% das 146 espécies investidas quanto ao sistema reprodutivo ou ao número cromossômico possuam dados para ambos os parâmetros, algumas inferências sobre as relações da ploidia com o sistema reprodutivo dessas espécies podem ser feitas. A ocorrência de autofertilidade não se mostra dependente de poliploidizações em todos os casos, mas parece que as populações neopoliplóides de Bignoniaceae são sempre autoférteis (Tabela 1). Embora a poliploidia possa levar à quebra do sistema de autoincompatibilidade (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002, Pannell *et al.* 2004, Barringer 2007), a ocorrência prévia de autofertilidade permite que a reprodução sexuada continue existindo em espécies que produzem gametas não reduzidos, como os híbridos, promovendo a poliploidização (Husband *et al.* 2008). Por outro lado, espécies autoestéreis que produzam gametas não reduzidos também podem se poliploidizar se houver diferentes indivíduos na população que produzam gametas não reduzidos (Ramsey & Schemske 1998, 2002). Já a apomixia mostra-se dependente de poliploidizações nos casos estudados para a família, embora nem todos os poliplóides sejam apomíticos.

A transição para estes sistemas reprodutivos sem dúvida tem um grande impacto sobre as relações ecológicas e evolução de suas espécies. Embora a autofertilidade e a apomixia

possam ser responsáveis pela redução da variabilidade genética (Richards 1986, 2003, Whitton *et al.* 2008), elas também podem representar alternativas a problemas para a realização da polinização cruzada e promover uma ampla dispersão de suas espécies (Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Ellstrand & Schierenbeck 2000, Allem 2004, Hotchkiss *et al.* 2008, Igic *et al.* 2008). Além disso, como a autofertilidade não impossibilita a ocorrência de polinizações cruzadas e nem a apomixia impede o processo sexual em grande parte das espécies de angiospermas (Richards 1986, 2003, Batygina 1999a e b, Whitton *et al.* 2008), estes processos não estão necessariamente relacionados a uma diminuição da variabilidade genética (Batygina 1999a e b, Hörandl & Paun 2007). Dessa forma, a evolução para um sistema misto, com apomixia, autofecundação e fecundação cruzada pode ser uma alternativa vantajosa (Allem 2004). Espécies com apomixia facultativa, as quais representam a maioria das espécies apomíticas (Richards 1986, Whitton *et al.* 2008), devem proporcionar mais facilmente a formação dos complexos agâmicos poliplóides com o desenvolvimento de novas linhagens evolutivas devido à manutenção da reprodução sexuada.

6 - Objetivos e estrutura da tese

O presente estudo teve como principal objetivo elucidar a ocorrência de variações no sistema reprodutivo de autoincompatibilidade nas espécies de Bignoniaceae, tentando estabelecer relações dessas variações com a forma de vida da planta, a ploidia e com a ocorrência de cruzamentos interespecíficos, apontando os grupos prioritários onde autofertilidade e apomixia possam ocorrer. Um objetivo mais específico foi a confirmação da manutenção da reprodução sexuada em apomíticos esporofíticos de *Handroanthus* e a possibilidade de cruzamentos intercitótipos, indicando que a variabilidade genética possa ser mantida nos complexos agâmicos poliplóides. Além disso, a verificação da origem dos embriões supranumerários no gênero *Anemopaegma* reforçará a hipótese de que a presença de apomixia esporofítica também esteja relacionada à poliploidia em plantas tropicais perenes.

O presente trabalho apresenta-se organizado em seis Capítulos. No primeiro Capítulo examinamos as relações entre o número cromossômico e biologia reprodutiva de 23 espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado. A apomixia esporofítica mostrou-se efetivamente associada à poliploidia, como em outras plantas tropicais perenes, e como as plantas que possuem apomixia gametofítica. Além disso, poliploidia, autofertilidade e apomixia não parecem ocorrer em decorrência da forma de vida ou habitat em Bignoniaceae, mas parecem

ser determinados filogeneticamente. No segundo Capítulo demonstramos experimentalmente a possibilidade de hibridações entre citótipos diplóides e tetraplóides de *Handroanthus*. O sucesso na produção de plântulas triplóides, tanto na população diplóide como na tetraplóide e apomítica, comprova que eventos de reprodução sexuada podem ocorrer em espécies apomíticas e gerar ao invés de diminuir a variabilidade genética em suas populações. O terceiro Capítulo estabelece a origem apomítica esporofítica dos embriões supranumerários em *Anemopaegma acutifolium* concomitantemente à confirmação das condições tetraplóide e autofértil, corroborando as generalizações acerca da poliploidia como um fator que leva à expressão da apomixia esporofítica em Bignoniaceae. O quarto Capítulo demonstra o sucesso na produção de frutos a partir de cruzamentos interespecíficos manuais entre duas espécies subarbustivas de *Adenocalymma*. E, embora nossos dados apontem para que as hibridações possam ocorrer naturalmente na área estudada, as espécies amostradas são diplóides, autoincompatíveis e monoembriônicas. O quinto Capítulo estuda a biologia reprodutiva de uma espécie subarbustiva de *Cuspidaria* e outra de *Fridericia*, enquanto o sexto o faz em duas espécies subarbustivas de *Jacaranda*. Os dois últimos Capítulos demonstraram que mesmo compondo o estrato vegetacional herbáceo-arbustivo do Cerrado, predominantemente autofértil (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008) e distinto ecologicamente do estrato arbóreo, predominantemente autoincompatível (Oliveira & Gibbs 2000), as espécies subarbustivas de cerrado de Bignoniaceae mantêm o sistema reprodutivo LSI típico da família. O fato de estas espécies se adaptarem a esta nova forma de vida num habitat de condições extremas como o Cerrado sem apresentarem autofertilidade ou apomixia, mostra que a reprodução sexuada e as polinizações cruzadas ocorrem sem problemas no estrato herbáceo-arbustivo, e que a apomixia ocorrendo concomitantemente à autofertilidade pode estar mais relacionada à ocorrência de hibridações e poliploidizações que às condições ecológicas circundantes. Esta talvez seja uma das principais conclusões da tese como um todo, discutidas brevemente na última seção.

Referências Bibliográficas

Abbot, R. J., James, J. K., Milne, R. I. & Gillies, A. C. M. 2003. Plant introductions, hybridization and gene flow. **Phil. Trans, R. Soc. London** B 338: 1123-1132.

Alcorcés de Guerra, N. 2002. Cariologia de dos espécies del gênero *Tabebuia* Gomes (Bignoniaceae). **Revista Científica UDO Agrícola** 2: 14-21.

Allem, A. C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long term evolutionary prospects in the angiosperms. **The Botanical Review** 69: 225-251.

Allen, A. M. & Hiscock, S. J. 2008. Evolution and phylogeny of self-incompatibility systems in angiosperms. In: Franklin-Tong, V. (ed.). p. 73-102. **Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms.** Springer-Verlag, Berlin.

Amaral, M. E. C. 1992. Ecologia floral de dez espécies da Tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semidecídua no município de Campinas, SP. **Tese de Doutorado**, Departamento de Ecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Appezzato-da-Glória, B. 2003. **Morfologia de sistemas subterrâneos: histórico e evolução do conhecimento no Brasil.** A.S. Pinto, Ribeirão Preto.

Asker, S. E. & Jerling, L. 1992. **Apomixis in plants**. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Baker, H. G. 1960. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). **American Journal of Botany** 47: 296-302.

Barbosa, A. A. A. & Sazima, M. 2008. Biologia reprodutiva de plantas herbáceo-arbustivas de uma área de campo-sujo de Cerrado. In: Sano, S. M., Almeida, S. P. & Ribeiro, J. F. (eds.). p. 291-318. **Cerrado: Ecologia e Flora,** vol. 1. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, e Embrapa Cerrados, Planaltina.

Barringer, B. C. 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. **American Journal of Botany** 94: 1527-1533.

Barros, M. G. 2001. Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth & Hook and *T. ochracea* (Cham). Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 255-261.

Batygina, T. B. 1999a. Genetic heterogeneity of seeds in terms of embryology. **Russian Journal of Plant Physiology** 46: 374-388.

Batygina, T. B. 1999b. Genetic heterogeneity of seeds. **Acta Biologica Cracoviensia** 41: 39-50.

Bawa, K. S. 1973. Chromosome numbers of tree species of a lowland tropical community. **Journal of the Arnold Arboretum** 54: 422-434.

Bawa, K. S. 1974. Breeding systems of tree species of lowland tropical community. **Evolution** 28: 85-92.

Bawa, K. S. & Webb, C. J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: Implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. **American Journal of Botany** 71: 736-751.

Bawa, K. S., Bullock, S. H., Perry, D. R., Coville, R. E. & Grayum, M. H. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. **American Journal of Botany** 73: 346-356.

Bertin, R. I. & Sullivan, M. 1988. Pollen interference and cryptic self-fertility in *Campsis radicans*. **American Journal of Botany** 75: 1140-1147.

Bianchi, M. B., Harris, S. A., Gibbs, P. E. & Prado, D. E. 2005. A study of the mating system in *Dolichandra cynanchoides* (Bignoniaceae): an Argentinian Chaco woodlands liane with a late-acting self-incompatibility. **Plant Systematics and Evolution** 251:173-181.

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2004. Pollination biology and breeding system of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae). **Plant Systematics and Evolution** 247: 241-254.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2005. Late-acting, self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). **International Journal of Plant Sciences** 166: 493-506.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2006. Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). **Australian Journal of Botany** 54: 315-324.

Bittencourt Júnior, N. S., Gibbs, P. E. & Semir, J. 2003. Histological study of post-pollination events in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniacceae), a species with late-acting self incompatibility. **Annals of Botany** 91: 827-834.

Bowden, W. M. 1940. Diploidy, polyploidy, and winter hardiness relationships in the flowering plants. **American Journal of Botany** 27: 357-371.

Bowden, W. M. 1945. A list of chromosome numbers in higher plants. I. Acanthaceae to Myrtaceae. **American Journal of Botany** 32: 81-92.

Bullock, S. H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. **Biotropica** 17: 287-301.

Carman, J. G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society** 61: 51-94.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörland, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Carvalho, A. T., Santos-Andrade, F. G. & Schlindwein, C. 2007. Baixo sucesso reprodutivo em *Anemopaegma laeve* (Bignoniaceae) no Parque nacional do Catimbau, Pernambuco. **Revista Brasileira de Biociências** 5: 102-104.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. B. & Lima, H. A. de 2005a. Produção de frutos e germinação das sementes de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae) – Um registro de poliembrionia. **Revista Sitientibus Série Ciências Biológicas** 5: 68-71.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. B. & Lima, H. A. 2005b. Biologia floral e polinização de *Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart. (Bignoniaceae). **Acta Botânica Brasilica** 19: 501-510.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. B. & Lima, H. A. 2006. Biologia floral e polinização de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae). **Lundiana** 7: 39-46.

Costa, M. E., Sampaio, D. S., Paoli, A. A. S. & Leite, S. C. A. L. 2004. Poliembrionia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 395-406.

Crepet, W. L. & Niklas, K. J. 2009. Darwin's second "abominable mystery": why are there so many angiosperm species? **American Journal of Botany** 96: 366–381.

De Nettancourt, D. 1977. **Incompatibility Systems in Angiosperms**. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

Dutra, J. C. S. & Machado, V. L. L. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante seu período de floração. **Neotropical Entomology** 30: 43-53.

Ellstrand, N. C. 2003. Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. **Phil. Trans, R. Soc. London** B 338: 1163-1170.

Ellstrand, N. C. & Schierenbeck, K. A. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? **PNAS** 97:7043-7050.

Ellstrand, N. C., Whitkus, R. & Riseberg, L. H. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 93: 5090-5093.

Ferreira, M. B. 1973. Bignoniaceae do Distrito Federal - I. O gênero *Anemopaegma* Mart. **Oréades** 4: 28-39.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese de Doutorado**. Departamento de

Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Forni-Martins, E. & Martins, F. R. 2000. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetic and Molecular Biology** 23: 947-955.

Forni-Martins, E., Pinto-Maglio, C. A. F. & Cruz, N. D. 1995. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. **Revista Brasileira de Genética** 18: 281-288.

Friedman , W. E., Madrid, E. N. & Williams, J. H. 2008. Origin of the fittest and survival of the fittest: Relating female gametophyte development to endosperm genetics. **International Journal of Plant Sciences** 169: 79-92.

Gentry, A. H. 1974a. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. **Biotropica** 6: 64-68.

Gentry, A. H. 1974b. Coevolutionary patterns in central american Bignoniaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61: 728-759.

Gentry, A. H. 1976. Bignoniaceae of southern Central America: Distribution and ecological specificity. **Biotropica** 8: 117-131.

Gentry, A. H. 1980. Bignoniaceae - Part. I. (Crescentieae and Tourrettieae). **Flora Neotropica** Monog. 25: 1-130.

Gentry, A. H. 1990. Evolutionary patterns in neotropical Bignoniaceae. **Memories of the New York Botanical Garden** 55: 118-129.

Gentry, A. H. 1992. Bignoniaceae - Part. II. (Tribe Tecomae). **Flora Neotropica** Monog. 25(II): 1-370.

Ghatak, J. 1956. A contribution to the life-history of *Oroxylum indicum* Vent. **Proceedings of the Indian Academical Science** 43 B: 72-87.

Gibbs, P. E. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. **Revista Brasileira de Botânica** 13: 125-136.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibily. **Botanica Acta** 106: 64-71.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LST: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. **Annals of Botany** 84: 449-457.

Gobatto-Rodrigues, A. A. & Stort, M. N. S. 1992. Biologia floral e reprodução de *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 15: 37-41.

Goldblatt, P. & Gentry, A. H. 1979. Cytology of Bignoniaceae. **Botanical Notiser** 132: 475-

482.

Good-Avila, S. V., Mena-Alí, J. I. & Stephenson, A. G. 2008. Genetic and environmental causes and evolutionary consequences of variations in self-fertility in self-incompatible species. In: Franklin-Tong, V. (ed.). p. 33-52. **Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms**. Springer-Verlag, Berlin.

Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberber, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american tropical seasonal ecosystem**. Vol. 1: origin, structure, dynamics and plant use. Ulm: Reta Verlag, Germany.

Grose, S. O. & Olmstead, R. G. 2007a. Evolution of a charismatic neotropical clade: molecular phylogeny of *Tabebuia* s.l., Crescentieae, and allied genera (Bignoniaceae). **Systematic Botany** 32: 650-659.

Grose, S. O. & Olmstead, R. G. 2007b. Taxonomic revision in the polyphiletic genus *Tabebuia* s.l. (Bignoniaceae). **Systematic Botany** 32: 660-670.

Guerra, N. A. & Natera, R. M. 2007. Chromosome numbers tree *Tabebuia* species (Bignoniaceae). **Nordic Journal of Botany** 25: 359-360.

Guimarães, E., Di Stasi, L. C. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2008. Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. **Annals of Botany** 102: 699–711

Heslop-Harrison, J. & Heslop-Harrison, Y. 1973. Pollen-wall proteins: "gametophytic" and "sporophytic" fractions in the pollen walls of the Malvaceae. **Annals of Botany** 37: 403-412.

Heslop-Harrison, J., Knox, R. B., Heslop-Harrison, Y. & Matisson, O. 1975. Pollen-wall proteins: emission and role in incompatibility responses. **Biological Journal of the Linnean Society** 7: 189-202.

Hoffmann, W. A. 2000. Post-establishment seedling success in the Brazilian Cerrado: a comparison of savanna and forest species. **Biotropica** 32: 62-69.

Hörandl, E. & Paun, O. 2007. Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials. In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 169-194. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Hotchkiss, E. E., Ditommaso, A., Brainard, D. C. & Mohler, C. L. 2008. Survival and performance of the invasive vine *Vincentoxicum rossicum* (Apocynaceae) from seeds of different embryo number under two light environments. **American Journal of Botany**

95: 447-453.

Husband, B. C., Ozimec, B., Martin, S. L. & Pollock, L. 2008. Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: current trends and insights from syntetic polyploids. **International Journal of Plant Sciences** 169: 195-206.

Igic, B., Lande, R. & Kohn, J. R. 2008. Loss of self-incompatibility and its evolutionary consequences. **International Journal of Plant Sciences** 169: 93-104.

Index to plant chromosome numbers. 1979-- . P. Goldblatt & D. E. Johnson, eds. Missouri Botanical Garden, St. Louis. **http://mobot.mobot.org/W3T/Search/ipcn.html**. Acesso em 22/04/2009.

James, E. A. & Knox, R. B. 1993. Reproductive biology of the Australian species of the genus *Pandorea* (Bignoniaceae). **Australian Journal of Botany** 41: 611-626.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. & Donoghue, M. J. 2008. **Plant Systematics: a phylogenetic approach.** 3rd ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland.

Koltunow, A. M. 1993. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The Plant Cell** 5: 1425-1437.

Koltunow, A. M. & Grossniklaus, U. 2003. Apomixis: A developmental perspective. **Annual Review of Plant Biology** 54: 547-574.

Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford.

Lohmann, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignonieae, Bignoniaceae). **American Journal of Botany** 93: 304-318.

Lohmann, L. G. No prelo. A new generic classification of Bignonieae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. **Annals of the Missouri Botanical Garden**.

Lohmann, L. G. & Pirani, J. R. 1996. Tecomeae (Bignoniaceae) da Cadeia de Espinhaco, Minas Gerais e Bahia, Brasil. **Acta Botânica Brasilica** 10: 103-138.

Lohmann, L. G. & Pirani, J. R. 1998. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Bignoniaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** 17: 127-153.

Maloof, J. E. 2001. The effects of a bumble bee robber on plant reproductive success and pollinator behavior. **American Journal of Botany** 88: 1960-1965.

Maués, M. M., Oliveira, P. E. A. M. & Kanashiro, M. 2008. Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the “Floresta Nacional do Tapajós”, Central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** 31: 517-527.

Mehra, P. N. & Bawa, K. S. 1969. Chromosomal Evolution in Tropical Hardwoods. **Evolution** 23: 466-481.

Mendes-Rodrigues, C., Carmo-Oliveira, R., Talavera, S., Arista, M., Ortiz, P. L. & Oliveira, P. E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombocoideae). **Plant Biology** 7: 533-540.

Milet-Pinheiro, P. & Schlindwein, C. 2009. Pollination in *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae): euglossine pollinators, nectar robbers and low fruit set. **Plant Biology** 11: 131-141.

Miranda, H. S., Bustamante, M. C. & Miranda, A. C. 2002. The fire factor. In: P. S. Oliveira, R. J. Marquis, eds. p. 51-68. **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna.** Columbia University Press, New York.

Morawetz, W. 1986. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution** 152: 49-100.

Oliveira, P. E. 1998. Sistemas de incompatibilidade: idéias a partir de plantas do Cerrado. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer** 2:89-102.

Oliveira, P. E. & Gibbs, P. E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a Cerrado community of Central Brazil. **Flora** 195: 311-329.

Oliveira, P. E., Gibbs, P. E., Barbosa, A. A. & Talavera, S. 1992. Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the brazilian cerrados. **Plant Systematics and Evolution** 179: 207-219.

Olmstead, R. G., Zjhra, M. L., Lohmann, L. G., Grose, S. O. & Eckert, A. J. 2009. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. **American Journal of Botany** 96: 1731–1743.

Ortolani, F. A. 2007. Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipês (Bignoniaceae). **Tese de Doutorado**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, SP.

Ortolani, F. A., Mataqueiro, M. F., Moro, J. R., Moro, F. V. & Damião Filho, C. F. 2008. Morfo-anatomia de plântulas e número cromossômico de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart. (Bignoniaceae). **Acta Botânica Brasilica** 22: 345-353.

Paclt, J. 1992. A review of brazilian representatives of the chrysotricha species group in the genus *Tabebuia* Gomes ex DC. (Bignoniaceae) **Acta Botanica Hungarica** 37: 95-103.

Pannell, J. R., Obbard, D. J. & Buggs, R. J. A. 2004. Polyploidy and the sexual system: what can we learn from Mercurialis annua? **Biological Journal of the Linnean Society** 82: 547-560.

Pathak, G. N., Singh, B., Tiwari, K. M., Srivastava, A. N. & Pande, K. K. 1949. Chromossome numbers in some angiopermous plants. **Current Science** 18: 347.

Petersen, C., Brown, J. H. & Kodric-Brown, A. 1982. An experimental study of floral display and fruit set in *Chilopsis linearis* (Bignoniaceae). **Oecologia** 55: 7-11.

Piazzano, M. 1998. Números cromosómicos en Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** 26: 179-189.

Polatto, L. P. & Alves Júnior, V. V. 2009. Sistema reprodutivo de *Sparattosperma leucanthum* (Vell.) K. Schum. (Bignoniaceae). **Revista Árvore** 33: 289-296.

Qu, R., Li, X., Luo, Y., Dong, M., Xu, H., Chen, X. & Dafni, A. 2007. Wind-dragged corolla enhances self-pollination: a new mechanism of delayed self-pollination. **Annals of Botany** 100: 1155–1164.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 29: 467-501.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 33: 589-639.

Ribeiro, S. P. 1998. The role of herbivory in *Tabebuia* spp. life history and evolution. **Phd Thesis**, University of London, London.

Richards, A. J. 1986. **Plant Breeding Systems**. George Allen & Unwin, London.

Richards, A. J. 2003 Apomixis in flowering plants: an overview. **Philosophical Transactions of the Royal Society-Biological Sciences** 358:1085-1093.

Riseberg, L. H., Widmer, A., Arntz, A. M. & Burke, J. M. 2003. The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations. **Phil. Trans, R. Soc. London** B 338: 1141-1147.

Sage, T. L., Bertin, R. I. & Williams, E. G. 1994. Ovarian and other late-acting self-incompatibility systems. In: E. G. Williams et al. (eds.), p. 116-140. **Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Salomão, A. N. & Allem, A. C. 2001. Polyembryony in angiosperm trees of the brazilian cerrado and caatinga vegetation. **Acta Botânica Brasilica** 15: 369-378.

Sampaio, E. S.& Almeida, A. A. 1995. Morfologia floral e biologia reprodutiva de *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae), na região urbana de Curitiba, Paraná. **Acta Biol.** 24: 25-38.

Santos, E. M. G. 2008. Biologia reprodutiva de *Jacaranda oxyphylla* Cham. e *Zeyheria montana* Mart. (Bignoniaceae). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências,

Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu, Botucatu, SP.

Sarmiento, G. 1983. The savannas of tropical America. In: Bourlière, F. (ed.). p. 245-288. **Ecosystems of the world** 13. Elsevier, Amsterdam.

Seavey, S. R. & Bawa, K. S. 1986. Late-acting self-imcompatibility in angiosperms. **The Botanical Review** 52: 195-219.

Shirke, D. R. 1986. Development of gametophytes in *Bignonia incarnata* Aubl. **Current Science** 55: 792-793.

Silva, C. I. 2004. Morfo-anatomia, biologia floral e reprodutiva de *Tecoma stans* (L.) Kunth (Bignoniaceae). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

Simmonds, N. W. 1954. Chromosome behavior in some tropical plants. **Heredity** 8: 139-146.

Soltis, D. E., Soltis, P. S., Schemske, D. W., Hancock, J. F., Thompson, J. N., Husband, B. C. & Judd ,W. S. 2007. Autopolyploidy in angiosperms: have we grossly underestimated the number of species? **Taxon** 56: 13-30.

Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C., Sankoff, D., Pamphilis, C. W., Kerr Wall, P. & Soltis, P. S. 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. **American Journal of Botany** 96: 336-348.

Somanathan, H. & Borges, R. M. 2001. Nocturnal pollination by the carpenter bee *Xylocopa tenuiscapa* (Apidae) and the effect of floral display on fruit set of *Heterophragma quadriloculare* (Bignoniaceae) in India. **Biotropica** 33: 78–89.

Souza, F. B. & Karsburg, I. V. 2009. Número cromossômico de erva-de-são-joão (*Pyrostegia venusta* Ker-Gawl.) Miers - Bignoniaceae **Anais da 2ª Jornada Científica da UNEMAT**:http://www2.unemat.br/prppg/jornada2009/resumos_conic/Expandido_00339.pdf. Acessado em 28/01/2010.

Souza, L. A., Iwazaki, M. C. & Moscheta, I. S. 2005. Morphology of pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC) Stand. (Bignoniaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 48: 407-418.

Spangler, R. E. & Olmstead, R. G. 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences rbcL. and ndhF. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 86: 33-46.

Srithongchuay, T., Bumrungsri, S & Sripao-raya, E. 2008.The pollination ecology of the late-successional tree, *Oroxylum indicum* (Bignoniaceae) in Thailand. **Journal of Tropical Ecology** 24: 477–484.

Stebbins, G. L. 1971. **Chromosomal Evolution in Higher Plants**. J. W. Arrowsmith Ltd., Bristol.

Stephenson, A. G. & Thomas, W. W. 1977. Diurnal and nocturnal pollination of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). **Systematic Botany** 2: 191-198.

Venkatasubban, K. R. 1945. Cytological studies in Bignoniaceae. IV The cytology of *Dolichandrone rheedii* Seem. and allied genera. **Proccedings of the Indian Academical Science** B 21: 77-92.

Vieira, M. F., Meira, R. M. S. A., Queiroz, L. P. & Meira Neto, J. A. A. 1992. Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) DC. (Bignoniaceae) em área de Cerrado do Sudeste Brasileiro. **Anais do 8º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo**: 13-19.

Vikas, Mayank Gautama, Rajesh Tandona & Mohan Ram, H. Y. 2009. Pollination ecology and breeding system of *Oroxylum indicum* (Bignoniaceae) in the foothills of the Western Himalaya. **Journal of Tropical Ecology** 25: 93-96.

Vitali, M. I. & Machado, V. L. L. 1995. Entomofauna visitante das flores de *Tabebuia chrysotricha* (Mart.) Standl. (Bignoniaceae). **Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil** 24: 77-88.

Zjhra, M. L. 2008. Facilitating sympatric species coexistence via pollinator partitioning in endemic tropical trees of Madagascar. **Plant Systematics and Evolution** 271: 157–176

Whitton, J., Sears, C. J., Baack, E. J. & Otto, S. 2008. The dynamic nature of apomixis in the Angiosperms. **International Journal of Plant Sciences** 169: 169-182.

Ynagizawa, Y. & Gottsberger, G. 1983. Competição entre *Distictella elongata* (Bignoniaceae) e *Crotalaria anagyroides* (Fabaceae) com relação às abelhas polinizadoras no Cerrado de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Portug. Acta Biol.** (A) 17: 149-166.

Ynagizawa, Y. A. N. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five Melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50: 1043-1050.

Tabela1: Sistemas reprodutivos e números cromossômicos em Bignoniaceae. Todas as espécies citadas no texto estão listadas nesta tabela, onde consta sua respectiva autoria. Adotaram-se as modificações nomenclaturais que surgiram após a publicação de Goldblatt & Gentry (1979), baseando-se principalmente nas revisões de Grose & Olmstead (2007b), Olmstead *et al.* (2009) e Lohmann (no prelo), e apresentando as sinonímias com as quais os dados foram originalmente publicados. A presença de diferentes autores para um mesmo aspecto significa que ele foi avaliado mais de uma vez para diferentes populações. A: apomixia. LSI: sistema de autoincompatibilidade de ação tardia. M: monoembrionia. P: poliembrionia. SC: autofertilidade. SI: sistema de autoincompatibilidade.

Espécie	**Sistema Reprodutivo**	**Autores/Data**	**Ploidia 2n**	**Autores/Data**
TRIBO JACARANDEAE				
Jacaranda acutifolia Bonpl.			36	Auquier & Renard 1975**, Mehra 1976**
Jacaranda caerulea (L.) Juss.			36	Simmonds 1954
Jacaranda caroba (Vell.) A. DC.	LSI	Vieira *et al.* 1992	36	Forni-Martins & Martins 2000
Jacaranda copaia (Aubl.) D. Don.	LSI	Maués *et al.* 2008		
Jacaranda decurrens Cham.	SI	Barbosa & Sazima 2008		
	SI	Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007		
Jacaranda hesperia Dugand			36	Goldblat & Gentry 1979
Jacaranda macrantha Cham.	SI	Bittencourt 1981 *apud* Bittencourt Júnior 2003		
Jacaranda mimosifolia D. Don			36	Venkatasubban 1944*, Mehra & Bawa 1969, Kendharnath 1950*, Nanda 1962*, Piazzano 1998
			(66)	Pathak *et al.* 1949
Jacaranda oxyphylla Cham.	SC	Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007		
	LSI	Guimarães *et al.* 2008		
Jacaranda racemosa Cham.	LSI	Bittencourt Júnior & Semir 2006		
Jacaranda rugosa A.H. Gentry	SI	Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009		
TRIBO TOURRETIEAE				
Tourrettia lappacea (L'Hér.) Willd. ex L. f.			40	Diers 1961*
ARGYLIA				
Argylia uspallatensis A. DC.			30	Covas & Schnack 1946*
DELOSTOMA				
Delostoma lobbii Seem.			42	Goldblat & Gentry 1979
TRIBO TECOMEAE				
Astianthus viminalis (Kunth) Baill.***	SC	Bullock 1985		
Campsis grandiflora (Thunb.) K. Schum.			(36)	Sugiura 1936*
			(38)	Venkatasubban 1944*
			40	Sax 1933*, Bowden 1940
Campsis radicans (L.) Bureau	LSI	Bertin & Sullivan 1988	40	Sax 1933*, Raghavan & Venkatasubban 1940*, Venkatasubban 1944*
Campsis x tagliabuana Rehder			(32)	Kondo 1972*
			40	Vilmorin & Simonet 1927*, Raghavan & Venkatasubban 1940*
Incarvillea compacta Maxim.			22	Bowden 1940
Incarvillea delavayi Bureau & Franch.			22	Sugiura 1936*, Bowden 1940
Incarvillea mairei var. *grandiflora* (Wehrh.) Grierson			22	Sugiura 1936*, Bowden 1940
Incarvillea olgae Regel			22	Bowden 1940, Zakaryeva & Astanova in Fedorov 1969*, Zakirova & Nafanailova 1988**
Incarvillea sinensis Lam.	SC	Qu *et al.* 2007	22	Matveeva & Tikhonova in Fedorov 1969*
Lamiodendron magnificum Steenis			48	Oginuma *et al.* 1998**
Niedzwedzkia semiretschenskia B. Fedtsch. (=*Incarvillea semiretschenskia* (B. Fedtsch.) Grierson) ***			22	Zakaryeva & Astanova in Fedorov 1969*, Zakirova & Nafanailova 1988**
Pajanella longifolia K. Schum.			40	Venkatasubban 1944*
Pandorea australis Spach			38	Venkatasubban 1944*
Pandorea baileyana Steenis	LSI	James & Knox 1993		
Pandorea jasminioides (Lindl.) K. Schum.	LSI	James & Knox 1993	38	Nakajima, 1936*

Pandorea pandorana Steenis	LSI	James & Knox 1993		
Tecoma arequipensis (Sprague) Sandwith			36	Goldblat & Gentry 1979
Tecoma capensis (Thunb.) Lindl.			34	Bir & Chattha, 1983**
			36	Piazzano 1998
Tecoma garrocha Hieron.			36	Goldblat & Gentry 1979, Piazzano 1998
Tecoma sambucifolia Kunth			(40)	Diers 1961*
Tecoma smthii (autoria?)			36	Venkatasubban 1944*, Sugiura 1931*, 1936*, Goldblat & Gentry 1979
Tecoma stans (L.) Juss. ex Kunth	SC	Dutra & Machado 2001, Silva 2003, J. R. Souza, dados não publicados	36	Goldblat & Gentry 1979, Bir & Chattha 1983**, Sandhu & Mann 1988**, Piazzano 1998
			(40)	Venkatasubban 1944*, Bowden 1940, 1945
Tecoma stans var. *angustatum* Rehder			36	Ward 1984**
Tecoma stans var. *velutina* A. DC.			36	Goldblat & Gentry 1979
Tecomanthe dendrophila K. Schum.			36	Brighton in Van Steenis 1977*
Tecomanthe speciosa W.R.B.Oliv.			38	Beuzenberg &Hair 1963*
Tecomaria capensis (Thunb.) Spach			34	Nakajima 1936*, Venkatasubban 1944*, Pai 1964*
			36	Goldblat & Gentry 1979
CRESCENTIINA PALEOTROPICAL CLADE				
Dolichandrone cynanchoides Cham.	LSI	Gibbs & Bianchi 1999, Bianchi *et al.* 2005	40	Bedi *et al.* 1980**
Dolichandrone falcata Seem.			40	Bir *et al.* 1979**, Gill *et al.* 1990**
Dolichandrone spathacea (L. f.) Baillon ex Schumann			40	Venkatasubban 1945
			42	Das *et al.* 1995**
Dolichandrone stipulata (Wall.) C.B. Clarke			40	Venkatasubban 1944*
Fernandoa adenophylla (Wall. ex G.Don) Steenis (=*Haplophragma adenophyllum* (Wall. ex G. Don) Dop)			40	Mehra 1976**
Heterophragma adenophyllum (Wall. ex G. Don) Seem. ex Benth. & Hook. f.			40	Venkatasubban 1944*
Heterophragma quadriloculare K. Schum.	SI	Somanathan & Borges 2001		
Kigelia aethiopica (Aubrév. ex Sillans) Decne.			40	Huang *et al.* 1989**
Kigelia africana (Lam.) Benth.			40	Venkatasubban 1944*, Bowden 1940, Miège 1954*, Mangenot & Mangenot 1962*
Kigelia pinnata (Jacq.) DC.			40	Mehra 1976**
			42	Bedi *et al.* 1981**, Gill 1990**
Markhamia lutea (Benth.) K.Schum. (=*Markhamia hildebrandtii* autoria?)			40	Venkatasubban 1945
Markhamia platycalyx (Baker) Sprague			40	Venkatasubban 1944*, Venkatasubban 1945
Newbouldia laevis (P. Beauv.) Seem. ex Bureau			38	Mangenot & Mangenot 1957*, 1962*
			40	Miège 1962*
Radermachera xylocarpa K. Schum.			40	Venkatasubban 1945
Spathodea campanulata P. Beauv.	LSI	Bittencourt Júnior *et al.* 2003	26	Raghavan & Venkatasubban 1940*, Venkatasubban 1945, Mehra & Bawa 1969
			36	Nanda 1962*
			38	Mangenot & Mangenot 1962*
Stereospermum chelonoides DC.			40	Venkatasubban 1944*, 1945
Stereospermum kunthianum Cham.			40	Miège 1962*
Stereospermum personatum (Hassk.) Chatterjee			40	Mehra & Bawa 1969
Stereospermum xylocarpum Benth. & Hook. f.			36	Bir *et al.* 1979**, Bir & Chattha 1983**, Gill *et al.* 1990**
PALEOTROPICAL CLADE - TRIBO COLEEAE				
Phyllarthron comorense DC.			40	Venkatasubban 1944*
TABEBUIA ALIANCE				
Cybistax antisifilitica Mart.	LSI M	Bittencourt Júnior 2003 Ortolani *et al.* 2008	40	Ortolani *et al.* 2008
Godmania aesculifolia (Kunth) Standl.	SI	Bawa 1974		
Handroanthus capitatus (Bureau ex. K. Schum.) Mattos (=*Tabebuia capitata* (Bureau ex K. Schum.) Sandwith)			40	Alcorcés de Guerra 2002, Guerra & Natera 2007

Handroanthus chrysanthus (Jacq.) S. Grose (=*Tabebuia chrysantha* (Jacq.) G. Nicholson)	SI	Bullock 1985	(38)	Venkatasubban 1944*
			40	Alcorcés de Guerra 2002, Guerra & Natera 2007
Handoanthus chrysanthus subsp. meridionalis (A. H.Gentry) S. Grose (=*Tabebuia spectabilis* (Planch. & Linden) G. Nicholson)			40	Venkatasubban 1945
Handroanthus chrysotrichus (Mart. ex DC) Mattos (=*Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex A. DC.) Standl.)	SC	Vitali & Machado 1995	80	Piazzano 1998, Ortolani 2007
	SC/P	Bittencourt Júnior & Semir 2005	40	Ortolani 2007
	P	Piazzano 1998, Ortolani 2007		
	A	Souza *et al.* 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados		
Handroanthus guayacan (Seeman) S. Grose (=*Tabebuia guayacan* (Seem.) Hemsl.)			40	Venkatasubban 1944*
Handroanthus heptaphyllus (Vell.) Mattos (=*Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo)	SC/SI	Bittencourt Júnior & Semir 2005	40	Covas & Schnack 1947*, Piazzano 1998, Ortolani 2007
Handroanthus impetiginosus (Mart. Ex DC) Mattos (=*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl.)	SI	Bullock 1985	40	Bawa 1973, Piazzano 1998
	LSI	Bittencourt Júnior & Semir 2005		
Handroanthus impetiginosus (Mart. Ex DC) Mattos (=*Tabebuia palmeri* Rose)	SI	Bawa 1974		
Handroanthus ochraceus subsp. *ochraceus* (Cham.) Mattos (=*Tabebuia ochracea* subsp *ochracea* (Cham.) Standl.)	LSI	Gibbs & Bianchi 1993		
	LSI	Barros 2001		
	P	Salomão & Allem 2001		
	A/P	Costa *et al.* 2004		
Handroanthus ochraceus subsp. *heterotrichus* (DC) S. Grose (=*Tabebuia ochracea* subsp. *heterotrichus* (DC) A. H. Gentry)			40	Guerra & Natera 2007
Handroanthus ochraceus subsp. *neochrysanthus* (A. H. Gentry) S. Grose (=*Tabebuia neochrysantha* A.H. Gentry)	LSI	Bawa 1974; Seavery & Bawa 1986	40	Guerra & Natera 2007
Handroanthus pulcherrimus (Sandwith) S. Grose (=*Tabebuia pulcherrima* Sandwith)			40	Piazzano 1998
Handoanthus serratifolius (Vahl) S. Grose (=*Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson)			(38)	Venkatasubban 1945
			40	Venkatasubban 1944*, Simmonds 1954
Handoanthus umbellatus (Sonder) Mattos (=*Tabebuia umbellata* (Sond.) Sandwith)	SI	Bittencourt Júnior & Semir 2005		
Handoanthus vellosoi (Toledo) Mattos (=*Tabebuia vellosoi* Toledo)	LSI	Bittencourt Júnior & Semir 2005		
Roseodendron donnell-smithii (Rose) Miranda (=*Tabebuia donnell-smithii* Rose)	SI	Bullock 1985	40	Sarkar *et al.* 1978b**
Sparattosperma leucanthum (Vell.) K. Schum.	LSI	Polatto & Alves Júnior 2009		
Tabebuia aurea (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore	LSI	Gibbs & Bianchi 1993		
	LSI	Barros 2001		
Tabebuia heterophylla (DC.) Britton			40	Simmonds 1954
Tabebuia nodosa (Griseb.) Griseb.	LSI	Gibbs & Bianchi 1999	40	Covas & Schnack 1947*
Tabebuia rosea (Bertol.) A. DC.	SI	Bawa 1974, Bawa & Webb 1984	40	Venkatasubban 1944*, Bawa 1973
Tabebuia rosea (Bertol.) A. DC. (=*Tabebuia pentaphylla* (L.) Hemsl.)			40	Venkatasubban 1944*, Pathak *et al.* 1949
Tabebuia roseo-alba (Ridl.) Sandwith			40	Ortolani 2007
Zeyheria montana Mart.	LSI	Bittencourt Júnior & Semir 2004, Barbosa & Sazima 2008		
Zeyheria tuberculosa (Vellozo) Bureau			40	Ortolani 2007
TABEBUIA ALIANCE - TRIBO CRESCENTIEAE				
Amphitecna latifolia (Mill.) A.H. Gentry			40	Simmonds 1954
Amphitecna montana L.O. Williams			40	Goldblat & Gentry 1979
Crescentia cujete L.			40	Venkatasubban 1944*, Simmonds 1954
			24	Kamble1993**, 1997**
			36	Sarkar *et al.* 1978**
Parmentiera aculeata (Kunth) Seem.			40	Venkatasubban 1944*
Parmentiera cereifera Seem.			40	Venkatasubban 1944*, Simmonds 1954

Parmentiera macrophylla Standl.			40	Goldblat & Gentry 1979
Parmentiera valerii Standl.			40	Goldblat 1989**
TRIBO OROXYLEAE				
Millingtonia hortensis L. f.			30	Narasinga Rao 1936*, Venkatasubban 1944*, Goldblat 1976*, Mehra 1976**
Oroxylum indicum (L.) Kurz	SI	Srithongchuay *et al.* 2008	28	Ghatak 1956, Mangenot & Mangenot 1962*, Goldblat 1976*
	LSI	Vikas *et al.* 2009		
			(30)	Venkatasubban 1944*, Mehra & Bawa 1969
TRIBO CATALPEAE				
Catalpa bignonioides Walter			40	Smith 1941*, Delay 1948*, Mehra & Bawa 1969, Mehra 1976**
Catalpa ovata G. Don			40	Smith 1941*, Suessenguth 1942**, Suzuka 1953*, Huang *et al.* 1989**
Catalpa speciosa Warder	SI	Stephenson & Thomas 1977	40	Smith 1941*, Huang *et al.* 1988**
Catalpa x *erubescens* Carrière			40	Smith 1941*
Catalpa syringifolia Bunge			40	Venkatasubban 1944*
Chilopsis linearis (Cav.) Sweet	SI	Petersen *et al.* 1982	40	Bowden 1945
TRIBO BIGNONIEAE				
Adenocalymma bracteatum (Cham.) DC.	LSI	Amaral 1992		
Adenocalymma marginatum (Cham.) DC.	LSI	Amaral 1992	40	Piazzano 1998
Adenocalymma patulum (Miers) L. Lohmann (=*Memora patula* Miers)			40	Goldblat & Gentry 1979
Amphilophium buccinatorium (DC.) L. Lohmann (=*Distictis buccinatoria* (DC.) A.H. Gentry)			40	Venkatasubban 1944*
Amphilophium crucigerum (L.) L. Lohmann (=*Pithecoctenium crucigerum* (L.) A.H. Gentry)			40	Fritsch 1970*, Goldblat & Gentry 1979, Piazzano 1998
Amphilophium cynanchoides (DC.) L. Lohmann (=*Pithecoctenium cynanchoides* DC.)			40	Bhattacharyya *et al.* 1978**, Piazzano 1998
Amphilophium elongatum (Vahl) L. Lohmann (=*Distictella elongata* (Vahl) Urb.)	SC	Ynagizawa & Gottsberger 1983		
Amphilophium paniculatum (L.) Kunth			40	Goldblat & Gentry 1979, Piazzano 1998
			(44)	Venkatasubban 1944*
Amphilophium paniculatum (L.) Kunth (=*Amphilophium vauthieri* A. DC.)	LSI	Amaral 1992		
Amphilophium pannosum (DC.) Bureau & K. Schum.			40	Piazzano 1998
Anemopaegma acutifolium DC.	P/SC	Firetti 2009	80	Firetti 2009
Anemopaegma album Mart. ex DC.	M	Firetti 2009	40	Firetti 2009
Anemopaegma arvense (Vell.) Stellfeld & J.F. Souza	P/SC	Firetti 2009	80	Firetti 2009
Anemopaegma chamberlaynii (Sims) Bureau & K. Schum.	LSI	Amaral 1992	40	Venkatasubban 1944*
	P	Correia *et al.* 2005a		
	SI	Correia *et al.* 2006		
Anemopaegma glaucum Mart. ex DC.	P/SC	Firetti 2009	80	Firetti 2009
Anemopaegma laeve DC.	SI	Carvalho *et al.* 2007		
Anemopaegma orbiculatum (Jacq.) A. DC.			40	Goldblat & Gentry 1979
Anemopaegma scabriusculum Mart.	P/SC	Firetti 2009	80	Firetti 2009
Bignonia aequinoctialis L. (=*Cydista aequinoctialis* (L.) Miers)			40, 40+1-2 B	Goldblat & Gentry 1979
Bignonia aequinoctialis L. (=*Bignonia incarnata* Aubl.)			40	Shirke 1986
Bignonia binata Thunb. (=*Clytostoma binatum* (Thunb.) Sandwith)			40	Venkatasubban 1944*, Piazzano 1998
Bignonia callistegioides Cham. (=*Clytostoma callistegioides* (Cham.) Bureau ex Griseb.)			40	Piazzano 1998
Bignonia capreolata L.			40	Bowden 1940
Bignonia corymbosa (Vent.) L. Lohmann (=*Phryganocydia corymbosa* (Vent.) Bureau ex K. Schum.)			40	Simmonds 1954
Bignonia diversifolia Kunth (=*Cydista diversifolia* (Kunth) Miers)			40	Venkatasubban 1944*

Bignonia magnifica W. Bull. (=*Saritaea magnifica* (W. Bull) Dugand)			40	Venkatasubban 1944*
Callichlamys latifolia (Rich.) K. Schum.			40	Simmonds 1954, Goldblat & Gentry 1979
Cuspidaria convoluta (Vell.) A.H. Gentry			40	Piazzano 1998
Cuspidaria cinerea (Bureau ex K. Schum.) L. Lohmann (=*Pyrostegia cinerea* Bureau ex K. Schum.)			40	Goldblat & Gentry 1979
Dolichandra cynanchoides Cham.	LSI	Gibbs & Bianchi 1999	40	Jullier 1989**, Piazzano 1998
Dolichandra dentata (K. Schum.) L. Lohmann (=*Macfadyena dentata* K. Schum.)			40	Piazzano 1998
Dolichandra uncata (Andrews) L. Lohmann (=*Macfadyena uncata* (Andrews) Sprague & Sandwith)			40	Piazzano 1998
Dolichandra unguis-cati (L.) L. Lohmann (=*Macfadyena unguis-cati* (L.) A.H. Gentry)			40	Venkatasubban 1945, Simmonds 1954
			80	Venkatasubban 1944*, 1945, Bowden 1940, 1945, Jullier 1989**, Piazzano 1998
Fridericia conjugata (Vell.) L. Lohmann (=*Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart.)	SI	Correia *et al.* 2005b		
Fridericia corallina (Jacq.) L. Lohmann (=*Arrabidaea corallina* (Jacq.) Sandwith)			40	Goldblat & Gentry 1979, Piazzano 1998
Fridericia platyphylla (Cham.) L. Lohmann (=*Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau)	SC	Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007		
Fridericia samydoides (Cham.) L. Lohmann (=*Arrabidaea samydoides* (Cham.) Sandwith)	LSI	Amaral 1992		
	SC	Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007		
Fridericia triplinervia (Mart. ex DC.) L. Lohmann (=*Arrabidaea triplinervia* (Mart. ex DC.) Baill. ex Bureau)	LSI	Amaral 1992		
	SI	Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007		
Lundia corymbifera (Vahl) Sandwith			40	Goldblat & Gentry 1979
Mansoa difficilis (Cham.) Bureau & K. Schum.			36 (-38)	Goldblat & Gentry 1979
Mansoa hymenaea (DC.) A.H. Gentry (=*Pachyptera hymenaea* (DC.) A.H. Gentry)			38	Simmonds 1954
Martinella obovata (Kunth) Bureau & K. Schum.			40	Goldblat & Gentry 1979
Pleonotoma jasminifolia (Kunth) Miers			40	Goldblat & Gentry 1979
Pyrostegia venusta (Ker Gawl.) Miers	SC	Gobatto-Rodrigues & Stort 1992	60	Joshi & Hardas 1956*
	M/SC	Sampaio & Almeida 1995	40	Piazzano 1998, Souza & Karsburg 2009
Stizophyllum perforatum (Cham.) Miers	LSI	Amaral 1992		
Stizophyllum riparium (Kunth) Sandwith			40	Goldblat & Gentry 1979
Tanaecium jaroba Sw.			40	Venkatasubban 1944*
Tanaecium pyramidatum (Rich.) L. Lohmann (=*Paragonia pyramidata* (Rich.) Bureau)			40	Simmonds 1954
Tanaecium selloi (Spreng.) L. Lohmann (=*Arrabidaea selloi* (Spreng.) Sandwith)	LSI	Amaral 1992	40	Piazzano 1998
Tynanthus micranthus Mello ex K. Schum			40	Piazzano 1998
Xylophragma seemannianum (Kuntze) Sandwith			40	Lewis & Oliver 1969*, 1970*

Nota: Os registros de números cromossômicos indicados por asteriscos não constam nas referências bibliográficas, pois foram compilados de: *Goldblat & Gentry 1979; e ***Index to plant chromosome numbers*. Os números cromossômicos entre parênteses são aqueles revisados por Goldblat & Gentry (1979) e que foram considerados contagens duvidosas. As tribos ou clados das espécies seguidas por *** são incertas.

PLOIDIA E SISTEMA REPRODUTIVO EM BIGNONIACEAE

Resumo

Alterações no genoma como mutações ou poliploidizações podem gerar modificações nos sistemas reprodutivos das plantas autoincompatíveis levando à autofertilidade e apomixia. A maioria das espécies poliplóides da família Bignoniaceae são autoférteis e apomíticas esporofíticas, de forma que complexos agâmicos poliplóides podem estar presentes. Como a família é constituída predominantemente de plantas arbóreas e lianas, conhecidamente autoincompatíveis, e as plantas do estrato herbáceo-arbustivo são predominantemente autoférteis, este trabalho teve como objetivo testar se as espécies subarbustivas de Bignoniaceae seriam preferencialmente autoférteis, além de confirmar a relação entre poliploidia, quebra do sistema de autoincompatibilidade e apomixia. A amostragem de diferentes populações e espécies permitiu a detecção de possíveis complexos agâmicos poliplóides. Para isso foi realizada a contagem do número cromossômico e a detecção de poliembrionia como um indicativo de apomixia em populações de 23 espécies de Bignoniaceae. Um levantamento bibliográfico dos sistemas reprodutivos dessas espécies também foi realizado para que pudesse ser relacionado à ploidia e à apomixia. Nossos resultados demonstraram que algumas espécies autoférteis (arbóreas e herbáceas) são diplóides ou a autofertilidade ocorre em populações isoladas de espécies diplóides (arbóreas, subarbustivas e de lianas), indicando que nestes casos a autofertilidade pode ter sido causada por mutações gênicas e fixada por fatores ambientais, aparentemente sem relação com a forma de vida da planta. As populações e espécies poliplóides, autoférteis e apomíticas de Bignoniaceae também podem ser constituídas de árvores, subarbustos ou lianas, de forma que não existe uma ocorrência preferencial de autofertilidade nos subarbustos ocorrentes no estrato herbáceo-arbustivo. As populações com elevadas frequências de sementes poliembriônicas foram consideradas apomíticas esporofíticas e todas elas foram poliplóides. Todas as espécies poliplóides foram autoférteis, mas nem todas foram apomíticas, indicando que a poliploidia possa quebrar o sistema de autoincompatibilidade, mas que possa não ser o único requisito para a expressão da apomixia. Como a apomixia ocorre preferencialmente em grupos onde hibridações parecem ser frequentes, a alopoliploidia pode ser importante para a expressão da apomixia. Os prováveis alopoliplóides em Bignoniaceae foram detectados nos gêneros *Handroanthus* e *Anemopaegma*, onde ocorrem complexos agâmicos poliplóides em

árvores e subarbustos, respectivamente.

Palavras-chave: apomixia esporofítica, autofertilidade, forma de vida, hibridações, poliploidia.

Introdução

As alterações no sistema reprodutivo das plantas podem ser de ordem fisiológica ou causadas por alterações no genoma (de Nettancourt 1977). A eupoliploidização, que consiste na duplicação total do genoma, parece ter uma interferência direta sobre o processo de reprodução das plantas (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Carman 1997, 2007, Levin 2002, Pannell *et al.* 2004, Barringer 2007). Os poliplóides tendem a ser autoférteis (Pannell *et al.* 2004, Levin 2002, Barringer 2007) ou apomíticos (Richards 1986, 2003, Carman 1997, 2007, Whitton *et al.* 2008), enquanto os parentais diplóides apresentam-se dióicos ou autoincompatíveis (Richards 1986, Levin 2002, Pannell *et al.* 2004). A poliploidização pode quebrar os sistemas de autoincompatibilidade gametofíticos (GSI) (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002, Barringer 2007, Allen & Hiscock 2008) e anular a determinação do sexo em plantas dióicas (Pannell *et al.* 2004), ainda sendo fundamental à expressão da apomixia (Richards 1986, 2003, Carman 1997, 2007, Savidan 2007, Whitton *et al.* 2008).

As poliploidizações ocorrem através de erros meióticos que produzem gametas não reduzidos (Stebbins 1971, Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002). Tais erros meióticos podem ocorrer espontaneamente em uma população, nos casos de autopoliploidia, ou podem ocorrer após o fluxo gênico interespecífico que favorece a ocorrência desses erros e a produção de gametas não reduzidos, nos casos de alopoliploidia (Stebbins 1971, Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002). Tanto a condição poliplóide como a condição híbrida, necessária à alopoliploidia, podem trazer complicações para a reprodução sexuada das plantas (Stebbins 1971, Ramsey & Schemske 1998, 2002). Dessa forma, os efeitos causados pela poliploidia sobre o sistema reprodutivo das plantas, geralmente autofertilidade e apomixia, acabam por permitir que estes poliplóides sejam mantidos no ambiente.

A família Bignoniaceae é muito diversa, com 827 espécies e 82 gêneros (Olmstead *et al.* 2009), e é amplamente distribuída nos neotrópicos (Gentry 1980, 1992, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Lohmann 2006, Lohmann, no prelo). A enorme diversidade dessa família de plantas lenhosas tropicais pode estar relacionada aos seus sistemas de

polinização, dependentes de animais, e ao sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI), que ocorre em cerca de 80% das espécies investigadas (ver Capítulo Introdutório, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003). Pode-se considerar que na família Bignoniaceae existe uma boa representatividade dos gêneros (52) e das espécies (122), avaliados quanto ao número cromossômico (ver Capítulo Introdutório). Embora esta considerável amostragem permita algumas análises importantes, o número de gêneros (27) e de espécies (54) avaliadas quanto ao sistema reprodutivo é bem menor, e apenas 29 espécies foram avaliadas quanto aos dois parâmetros (ver Capítulo Introdutório). O fato de, na maioria das vezes, a ploidia e o sistema reprodutivo dessas 29 espécies terem sido determinados em diferentes populações pode acarretar interpretações errôneas quanto à relação destes dois parâmetros.

Dentre as espécies de Bignoniaceae avaliadas quanto ao número cromossômico, 72,1% apresentam 2n=40 (ver Capítulo Introdutório). A ocorrência de espécies com 2n= 60 e 80 (Venkatasubban 1945, Bowden 1940, 1945, Joshi & Hardas 1956 *apud* Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998, Firetti 2009), indica que eupoliploidizações ocorreram a partir do número n=20. Das oito espécies poliplóides já registradas na família (ver Capítulo Introdutório), *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers, *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos e quatro espécies do gênero *Anemopaegma* Mart. ex Meisn. foram investigadas quanto ao sistema reprodutivo e apresentaram-se autoférteis (Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Sampaio & Almeida 1995, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Firetti 2009), sendo que a segunda também é apomítica (Souza *et al.* 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). Estes dados demonstram que a poliploidia parece estar relacionada de alguma forma com a quebra do sistema de autoincompatibilidade (Amaral 1992, James & Knox 1993, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003) e com a expressão da apomixia em Bignoniaceae, como verificado para outras famílias de angiospermas (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002, Carman 1997, 2007, Pannell *et al.* 2004, Barringer 2007).

As espécies apomíticas de Bignoniaceae, *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos e *H. chrysotrichus*, apresentam apomixia esporofítica (Costa *et al.* 2004, Souza *et al.* 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) e elevadas taxas de sementes poliembriônicas, chegando a mais de 80% de sementes com múltiplos embriões (Piazzano 1998, Salomão & Allem 2001, Costa *et al.* 2004, C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados). As espécies poliplóides e autoférteis de *Anemopaegma* também apresentaram sementes poliembriônicas (Firetti 2009), podendo indicar a presença de apomixia esporofítica também em suas espécies

(Maheshwari 1950, Lakshmanan & Ambegaokar 1984, Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003, Whitton *et al.* 2008).

Já *H. ochraceus*, embora apomítica (Costa *et al.* 2004), é diplóide (Guerra & Natera 2007) e apresenta sistema de autoincompatibilidade (Gibbs & Bianchi 1993, Barros 2001) ou autofertilidade em suas populações (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), o que pode ser explicado pelo estudo de diferentes populações. A possível presença de diferentes citótipos em *H. ochraceus* e a proximidade taxonômica dessa espécie com *H. chrysotrichus* (Gentry 1992, Grose & Olmstead 2007b), bem como a proximidade taxonômica entre as espécies do complexo Anemopaegma arvense (Ferreira 1973, Firetti 2009), indicam que podem se tratar de dois complexos agâmicos poliplóides. A confirmação da apomixia esporofítica vinculada à poliploidia nas demais espécies dos complexos Handroanthus chrysotrichus e Anemopaegma arvense indicará que, embora a maioria dos grupos que apresenta apomixia esporofítica seja diplóide (Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Whitton *et al.* 2008), em outros este tipo de apomixia pode ocorrer em espécies poliplóides, como é comum para a apomixia gametofítica (Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Carman 1997, 2007, Whitton *et al.* 2008).

Embora os sistemas de autoincompatibilidade predominem nas espécies arbóreas (Oliveira & Gibbs 2000), plantas do estrato herbáceo e subarbustivo são predominantemente autoférteis (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008). Dessa forma, quando ocorre a adaptação à forma subarbustiva também podem ocorrer modificações no sistema reprodutivo da planta. Diversas espécies lenhosas de angiospermas que são típicas de florestas tropicais úmidas possuem representantes congenéricos no Cerrado (Sarmiento & Monasterio 1983). Os gêneros de Bignoniaceae que são representados por árvores ou lianas nas florestas possuem muitas vezes representantes subarbustivos no Cerrado (Gentry 1992, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Lohmann 2006, Lohmann, no prelo), e ao que tudo indica, estas espécies podem ter se originado a partir das congenéricas de florestas (Gentry 1992, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Lohmann 2006, Lohmann, no prelo).

O presente trabalho teve como objetivo verificar a existência de relação entre a poliploidia e as modificações no sistema de autoincompatibilidade em Bignoniaceae, além de investigar a presença de complexos agâmicos poliplóides ainda desconhecidos que poderão auxiliar no tratamento sistemático e nos estudos ecológicos de suas espécies. Testamos também se as espécies subarbustivas de Bignoniaceae típicas de Cerrado são preferencialmente autoférteis e apomíticas como as demais espécies típicas deste estrato

vegetacional.

Material e Métodos

Espécies e populações estudadas - Para as análises da frequência de sementes poliembriônicas como um indicativo da presença de apomixia esporofítica e do número cromossômico foram coletadas sementes maduras de 23 espécies de Bignoniaceae pertencentes às tribos Jacarandeae, Tecomeae, ao clado "Tabebuia Alliance" *sensu* Olmstead e colaboradores (2009), e à tribo Bignonieae. As coletas de sementes foram realizadas entre os anos de 2006 e 2008 em populações naturais ou em indivíduos cultivados ocorrentes nos estados de Goiás, Minas Gerais e São Paulo. A lista de espécies estudadas, o hábito, tipo vegetacional, a localização geográfica de cada população ou indivíduo e o código do material testemunho constam na Tabela 1. A identificação do material Botânico foi gentilmente confirmada pelos especialistas Dra. L. G. Lohmann, Dra. F. Firetti e Dr. D. J. Coral. Para a maioria das espécies pôde-se realizar as análises em diferentes populações, e no caso de *Handroanthus ochraceus* subsp. *ochraceus* (Cham.) Mattos e *H. serratifolius* (Vahl) S. Grose a análise também foi realizada para diferentes indivíduos.

Análise do número cromossômico - As sementes destinadas às análises citogenéticas foram armazenadas em sacos de papel e mantidas em geladeira. Para a germinação das sementes foram utilizadas caixas Gerbox® forradas com uma camada de algodão e uma folha de papel filtro umedecidas com água destilada. As sementes foram postas para germinar à temperatura ambiente e sob luz natural. As sementes consideradas germinadas apresentaram a protrusão da radícula. Os meristemas radiculares foram cortados com auxílio de lâmina de barbear e pré-tratados em PDB (Para-diclorobenzeno-Aldrich), solução saturada, por quatro horas entre 16º e 18°C. As radículas foram fixadas em solução Carnoy 3:1 (3 partes de etanol absoluto P.A. : 1 parte de ácido acético glacial) por 24 horas e armazenadas em etanol 70% em freezer abaixo de 0ºC. Para a confecção das lâminas, os ápices radiculares foram digeridos em solução de HCl 5N por 20 minutos em temperatura ambiente e submetidos à técnica usual de esmagamento. As lamínulas foram removidas após a imersão em nitrogênio líquido. A coloração foi realizada com solução de Giemsa a 2%, variando de 10 a 30 minutos (Guerra 1983). Após a secagem das lâminas, estas foram montadas com resina semipermanente Entellan®.

Sempre que possível, foram analisadas mais de uma lâmina de cada amostra e

contaram-se pelo menos 20 células com bom espalhamento e morfologia cromossômica nas quais o número tenha permanecido constante. Não foi possível analisar este número de células quando o número de radículas obtidas na germinação de sementes foi baixo, cujas espécies podem ser identificadas na Tabela 1. A contagem do número cromossômico foi realizada sob microscópio óptico Olympus BX51 e as placas metafásicas foram fotografadas com auxílio de câmera digital Olympus DP70.

Análise da frequência de sementes poliembriônicas - A ocorrência de apomixia foi avaliada através da presença de elevadas frequências de sementes poliembriônicas (Costa *et al.* 2004, Salomão & Allem 2001, C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados). As sementes coletadas de frutos maduros foram fixadas em etanol 70% ou FAA 70 e dissecadas com auxílio de pinças sob estereomicroscópio Olympus SZX12. Durante a dissecação foi retirado o tegumento da semente e o envoltório membranáceo dos embriões para a contagem do número de embriões por semente (Sampaio *et al.* 2007, Capítulo 3). Os embriões sempre tiveram seus cotilédones separados para verificar a presença de embriões menores entre os cotilédones. Em alguns casos, onde o tegumento da semente era muito rígido e aderido ao corpo do embrião, ou em que um número pequeno de sementes estava disponível, a presença ou ausência de poliembrionia foi verificada através da germinação de sementes e contagem do número de plântulas formadas. As sementes germinadas utilizadas para a detecção de poliembrionia foram as mesmas utilizadas para a extração do ápice radicular e contagem do número cromossômico. Anteriormente à extração do ápice radicular para análise citogenética, verificou-se se cada semente possuía uma ou mais plântulas, classificando-as como mono ou poliembriônica, respectivamente.

Sistema reprodutivo - A fim de se estabelecer relações entre ocorrência da ploidia e da apomixia com os sistemas de reprodução das espécies estudadas, foi realizada uma revisão dos sistemas reprodutivos nestas espécies e os demais capítulos da Tese foram referenciados na Tabela 1.

Resultados

Todas as espécies avaliadas possuem dados sobre ploidia, poliembrionia e sistema reprodutivo, exceto por *Jacaranda ulei* Bureau & K. Schumann e *Adenocalymma pedunculatum* (Vell.) L. Lohmann que não possuem dados sobre sistema reprodutivo (Tabela 1). O número cromossômico encontrado para os gêneros *Jacaranda* Jussieu e *Tecoma* Jussieu

Tabela 1: Análise das diferentes espécies e populações estudadas quanto ao número cromossômico diplóide, porcentagem de sementes poliembriônicas como um indicativo de apomixia, e sistema reprodutivo. Os números entre parênteses após a ploidia indicam o número de placas metafásicas observadas. D: sementes dissecadas; G: sementes germinadas. Os dados de números cromossômicos e sementes poliembriônicas são apenas aqueles obtidos neste trabalho, sendo que números que constam na literatura estão presentes na Discussão do Capítulo. Enquanto os dados de sistema reprodutivo foram compilados da literatura disponível ou obtidos em outros Capítulos da Tese. Citações seguidas por um asterisco indicam que a análise foi realizada na mesma população avaliada quanto à ploidia e poliembrionia. Material testemunho seguido por dois asteriscos indica que a coleta foi realizada na mesma população por outro coletor.

Espécie	População/Indivíduo	Hábito - Tipo vegetacional	Localização geográfica	Material testemunho	Ploidia (n)	% de sementes poliembriônicas (n)	Sistema reprodutivo
TRIBO JACARANDEAE							
Jacaranda caroba	PNSC - Serra da Canastra, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto - Cerrado, campo sujo	20°13’06.6”S 46°28’59.9”W	HUFU-34883, 35611**	2n=36 (20)	0% (n=100 D)	SI (Vieira *et al.* 1992)
Jacaranda decurrens	CCPIU - Uberlândia, MG/População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto - Cerrado, cerrado sentido restrito e campo sujo	18°58’48.5”S 48°17’45.8”W	HUFU-50050	2n=36 (20)	0% (n=60 D)	SI (Barbosa & Sazima 2008*, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007)
Jacaranda paucifoliolata	Chapéu do Sol - Serra do Cipó, MG/População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto - Cerrado, campo rupestre (área utilizada para pastagem)	19º18’18,6”S 43º36’13,3”W	HUFU-44911, 47292	2n=36 (21)	0% (n=112 D)	SI (Cap. 6*)
Jacaranda rufa	Faz. Água Limpa - Uberlândia, MG/População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto - Cerrado, cerrado sentido restrito	19°05’22”S 48°21’15”W	-	-	0% (n=28 D)	-
Jacaranda rufa	PESCAN - Caldas Novas, GO/População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto - Cerrado, cerrado sentido restrito	17º46’45”S 48º40’26”W	HUFU-46276, 46277	2n=36 (20)	0% (n=300 D)	SI (Cap. 6*)
Jacaranda ulei	JBB - Brasília GO/População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto - Cerrado, campo sujo	15°52’51.2”S 47°50’04.6”W	HUFU-48839	2n=36 (21)	0% (n=25G)	-
TRIBO TECOMEAE							
Tecoma stans	UFU, Umuarama - Uberlândia, MG/Diferentes indivíduos cultivados	Árvore/área urbana	18°53’05.49”S 48°15’34.38”W	HUFU-55314	2n=36 (20)	0% (n=200 D)	SC (J. R. Souza, dados não publicados*, Dutra & Machado 2001)
Tecoma stans	USP-Ribeirão Preto, SP/Diferentes indivíduos cultivados	Árvore/área urbana	21°10’9.86”S 47°51’38.43”W	HUFU-55492	2n=36 (19)	0% (n=152 D)	SC (Silva 2004*)
“TABEBUIA ALLIANCE”							
Handroanthus chrysotrichus	Gruta do Baú, Serra do Cipó - Fidalgo, MG/Indivíduo provavelmente cultivado	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°32’50.4”S 43°59’13.6”W	HUFU-52594	2n=80 (8)	64% (n=50 D)	SC (Bittencourt Júnior & Semir 2005)

Handroanthus chrysotrichus	UFU, Umuarama - Uberlândia, MG/Diferentes indivíduos cultivados	Árvore/área urbana	18°53’6.64”S 48°15’36.23”W	HUFU-52589	2n=80 (20)	86,21% (n=87 D)	SC (Cap. 2*)
Handroanthus chrysotrichus	Posto Cristal - Cristalina, GO/Indivíduo cultivado	Árvore/área urbana	16°43’08.2”S 47°39’18.6”W	HUFU-55494	2n=80 (20)	84% (n=50 D)	-
Handroanthus impetiginosus	Serra do Cipó - Lapinha, MG/Indivíduo provavelmente natural	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°34’34.5”S 43°56’23.7”W	-	2n=40 (20)	0% (n=50 D)	SI (Bawa 1974, Bullock 1985, Bittencourt Júnior & Semir 2005)
Handroanthus impetiginosus	Araxá - Luz, MG/Indivíduo provavelmente natural	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°47’03.3”S 45°43’00.3”W	-	2n=40 (21)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Biri-Biri, Diamantina, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado	18°08’53.99”S 43°37’24.9”W	-	2n=40 (15)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Gruta do Baú, Serra do Cipó - Fidalgo, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°32’50.4”S 43°59’13.6”W	-	-	52% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Gruta do Baú, Serra do Cipó - Fidalgo, MG/População natural-indivíduo 2	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°32’50.4”S 43°59’13.6”W	BHCB-68100, 68101**	2n=80 (20)	60% (50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Serra do Cipó - Fidalgo, MG/População natural-indivíduo 3	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°31’45.1”S 43°57’39.4”W	-	-	70% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Luz - Araxá, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°47’03.9”S 45°42’55.6”W	-	-	66% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Luz - Araxá, MG/População natural-indivíduo 2	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°47’03.9”S 45°42’55.6”W	-	-	46% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Luz - Araxá, MG/População natural-indivíduo 3	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°47’03.9”S 45°42’55.6”W	-	-	26,92% (n=78 D)	-
Handroanthus ochraceus	Luz - Araxá, MG/População natural-indivíduo 4	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°46’00.5”S 45°47’00.4”W	-	2n=40 (20)	2% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Luz - Araxá, MG/População natural-indivíduo 5	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°45’52.8”S 45°47’20.2”W	HUFU-52593	-	64% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Luz - Araxá, MG/População natural-indivíduo 6	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°41’10.9”S 46°02’12.8”W	HUFU-52592	-	66% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Araxá - Uberlândia, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°17’35.9”S 47°24’01.6”W	-	2n=40 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	CCPIU - Uberlândia, MG/Indivíduo provavelmente cultivado 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’33.2”S 48°17’30.71”W	HUFU-48926	2n=40 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	CCPIU - Uberlândia, MG/Indivíduo provavelmente cultivado 2	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’33.2”S 48°17’30.71”W	HUFU-48927	-	0% (n=30 D)	-
Handroanthus ochraceus	CCPIU - Uberlândia, MG/Indivíduo provavelmente cultivado 3	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’33.2”S 48°17’30.71”W	HUFU-48928	-	0% (n=30 D)	-

Handroanthus ochraceus	CCPIU - Uberlândia, MG/Indivíduo provavelmente cultivado 4	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’33.2”S 48°17’30.71”W	-	-	0% (n=30 D)	-
Handroanthus ochraceus	Sucupira - Uberlândia, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’2.48”S 48°10’6.13”W	HUFU-52585	2n=40 (20)	0% (n=50 D)	SI (Cap. 2*)
Handroanthus ochraceus	Sucupira - Uberlândia, MG/População natural-indivíduo 2	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’2.48”S 48°10’6.13”W	-	-	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Sucupira - Uberlândia, MG/População natural-indivíduo 3	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’2.48”S 48°10’6.13”W	-	-	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Sucupira - Uberlândia, MG/População natural-indivíduo 4	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’2.48”S 48°10’6.13”W	-	-	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Sucupira - Uberlândia, MG/População natural-indivíduo 5	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°58’2.48”S 48°10’6.13”W	-	-	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Uberlândia - Araguari, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°47’57.6”S 48°14’14.5”W	HUFU-55501	2n=80 (20)	56% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Araguari - Brasília, MG/População natural-indivíduo 2	Árvore/Cerrado (área alterada)	18°33’24.9”S 48°03’22.1”W	HUFU-55504	2n=80 (20)	58% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 3	Árvore/Cerrado (área alterada)	16°46’43.3”S 47°35’05.8”W	HUFU-55508	-	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 4	Árvore/Cerrado (área alterada)	16°46’19.3”S 47°37’14.3”W	HUFU-55503	2n=40 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 5	Árvore/Cerrado (área alterada)	16°46’19.3”S 47°37’14.3”W	-	2n=40 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 6	Árvore/Cerrado (área alterada)	16°47’45.7”S 47°38’48.9”W	HUFU-55506	2n=40 (21)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 7	Árvore/Cerrado (área alterada)	17°04’49.1”S 47°44’00.7”W	HUFU-55507	2n=40 (21)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 8	Árvore/Cerrado (área alterada)	17°04’49.1”S 47°44’00.7”W	-	2n=40 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Cristalina, GO/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	16°47’54.4”S 47°38’59.2”W	-	2n=40 (23)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	JBB - Brasília, GO/ População natural, diferentes indivíduos	Árvore/ Cerrado, cerrado sentido restrito	15°52’51.9”S 47°50’05.8”W	HUFU-48837	2n=40 (20)	3,9% (n=77 D)	SI (Gibbs & Bianchi 1993*, Barros 2001)
Handroanthus ochraceus	PESCAN - Caldas Novas, GO/ População natural, diferentes indivíduos	Árvore/ Cerrado, cerrado sentido restrito	17°47’09.13”S 48°40’2.06”W	HUFU-55502	2n=40 (20)	0% (50 D)	SI (D. S. Sampaio, dados não publicados*)
Handroanthus ochraceus	UNESP - S. J. Rio Preto, SP/Indivíduo cultivado 1	Árvore/área urbana	20º47’7.10”S 49º21’31.37”W	SJRP-29235**	2n=80 (20)	62% (n=50 D)	SC (N.S.Bittencourt Júnior, dados não publicados*)
Handroanthus ochraceus	UNESP - S. J. Rio Preto, SP/Indivíduo cultivado 2	Árvore/área urbana	20º47’7.10”S 49º21’31.37”W	-	-	78% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	UNESP - S. J. Rio Preto, SP/Indivíduo cultivado 3	Árvore/área urbana	20º47’7.10”S 49º21’31.37”W	-	-	62% (n=50 D)	-

Handroanthus ochraceus	UNESP - S. J. Rio Preto, SP/Indivíduo cultivado 4	Árvore/área urbana	20º47’7.10”S 49º21’31.37”W	-	-	68% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	UNESP - S. J. Rio Preto, SP/Indivíduo cultivado 5	Árvore/área urbana	20º47’7.10”S 49º21’31.37”W	-	-	94% (n=50 D)	-
Handroanthus ochraceus	Imigrantes - São Paulo, SP/Indivíduo cultivado	Árvore/área urbana	23º38’23.08”S 46º37’45.25”W	-	2n=80 (20)	91,07% (n=56 D)	-
Handroanthus serratifolius	Gruta do Baú, Serra do Cipó - Fidalgo, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°33’11.0”S 43°59’22.1”W	HUFU-52597	2n=120 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Gruta do Baú, Serra do Cipó - Fidalgo, MG/População natural-indivíduo 2	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°32’43.5”S 43°59’00.5”W	-	2n=120 (20)	0% (50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Serra do Cipó - Lapinha, MG/Indivíduo provavelmente cultivado	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°33’52.3”S 43°56’37.1”W	HUFU-52598	2n=120 (6)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	São Joaquim de Bicas, MG/Indivíduo provavelmente cultivado	Árvore/Cerrado (área alterada)	20°01’57.2”S 44°14’25,3”W	HUFU-52595	2n=120 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	UFU, Umuarama - Uberlândia, MG/Indivíduo cultivado	Árvore/área urbana	18°53’2.4”S 48°15’33.46”W	HUFU-48932	2n=120 (20)	0% (n=173 D)	SC (Cap. 2*)
Handroanthus serratifolius	Universidade da Criança - Uberlândia, MG/Indivíduo cultivado	Árvore/área urbana	18°53’18.78”S 48°15’36.76”W	HUFU-52591	2n=118 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	CCPIU - Uberlândia, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	19°0’11.87”S 48°18’46.01”W	HUFU-52586, 52590	2n=120 (20)	0% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	17°18’18.2”S 47°45’47.9”W	HUFU-52587	2n=100 (4), 110 (2) e 120 (2)	72% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 2	Árvore/Cerrado (área alterada)	17°16’57.1”S 47°45’33.0”W	HUFU-52588	2n=120 (20)	86% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Araguari-Brasília, GO/População natural-indivíduo 3	Árvore/Cerrado (área alterada)	17°16’16.9”S 47°45’56.6”W	HUFU-55495, 55496	2n=120 (3)	82% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 4	Árvore/Cerrado (área alterada)	17°16’16.9”S 47°45’56.6”W	-	2n=120 (11)	86% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 5	Árvore/Cerrado (área alterada)	17°16’16.9”S 47°45’56.6”W	-	2n=120 (20)	54% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Araguari - Brasília, GO/População natural-indivíduo 6	Árvore/Cerrado (área alterada)	16°19’11.6”S 47°50’05.8”W	-	2n=120 (20)	78% (n=50 D)	-
Handroanthus serratifolius	Luziânia, GO/População natural-indivíduo 1	Árvore/Cerrado (área alterada)	16°14’14.4”S 47°56’31.8”W	HUFU-48937	2n=120 (20)	88,33% (n=120 D)	-
Handroanthus vellozoi	Juquinha-Serra do Cipó, MG/População natural-indivíduo 1	Árvore/ Cerrado, campo rupestre	19°15’31.9”S 43°33’02.3”W	HUFU-52596	-	0% (n=50 D)	SI (Bittencourt Júnior & Semir 2005*)

Tabebuia aurea	PESCAN - Caldas Novas, GO/População natural-indivíduo 1	Árvore/ Cerrado, cerrado sentido restrito	17º46’45”S 48º40’26”W	HUFU-55500	2n=40 (20)	0% (n=14G)	SI (Gibbs & Bianchi 1993, Barros 2001)
Tabebuia rosea	UFU, Umuarama-Uberlândia, MG/Indivíduo cultivado	Árvore/área urbana	18°53’07.21”S 48°15’34.71”W	HUFU-55491	2n=40 (20)	0% (n=24G)	SI (Bawa 1974, Bawa & Webb 1984)
Zehyeria montana	EEPanga - Uberlândia, MG/População natural-indivíduo 1	Arbusto/ Cerrado, cerrado sentido restrito	19°10’41.94”S 48°23’21.54”W	HUFU-47237**	2n=40 (20)	0% (n=10 D)	SI (Bittencourt Júnior & Semir 2004)
Zehyeria montana	Serra do Cipó-Distrito da Serra do Cipó, MG/População natural-indivíduo 1	Arbusto/ Cerrado, cerrado sentido restrito	19°20’7.51”S 43°37’33.77”W	-	-	0% (n=29 D)	-
TRIBO BIGNONIEAE							
Adenocalymma campicola	CCPIU - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo (área alterada)	18°58’48.5”S 48°17’45.8”W	HUFU-45287	2n=40 (12)	0% (n=28 D)	SI (Cap. 4*)
Adenocalymma campicola	PESCAN - Caldas Novas, GO/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, cerrado sentido restrito	17º46’45”S 48º40’26”W	HUFU-55499	2n=40 (20)	0% (n=16 G)	-
Adenocalymma pedunculatum	Brasília, GO/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo (área alterada)	15°57’58.4”S 47°53’04.7”W	HUFU-48841	2n=40 (22)	0% (n=79 D)	-
Adenocalymma peregrinum	CCPIU - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo (área alterada)	18°58’48.5”S 48°17’45.8”W	HUFU-44908, 48925	2n=40 (22)	0% (n=35 G)	SI (Cap. 4*)
Anemopaegma acutifolium	CCPIU - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo e campo limpo (área alterada)	18°58’48.5”S 48°17’45.8”W	HUFU-47295, 47296	2n=80 (20)	90,54% (n=148 D)	SC (Cap. 3*) (Firetti 2009)
Anemopaegma acutifolium	Faz. Água Limpa - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área alterada)	19°05’22”S 48°21’15”W	-	2n=80 (17)	65,38% (n=27 D)	-
Anemopaegma acutifolium	Botucatu, SP/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área alterada)	22°57’07.1”S 48°29’10.6”W	HUFU-50823	2n=80 (20)	87,5% (n=96 D)	-
Anemopaegma arvense var. *arvense*	Bauru, SP/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área alterada)	22°19’32.7”S 49°00’34.3”W	-	2n=80 (20)	68,89% (n=45 D)	SC (Firetti 2009)
Anemopaegma arvense var. *petiolata*	Serra do Cipó MG10-km 53, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área utilizada para pastagem)	19°30’58.3”S 43°53’05.7”W	HUFU-44986	-	79,17% (n=24 D)	-
Anemopaegma arvense var. *puberula*	CCPIU - Uberlândia, MG/ População natural, indivíduo 1	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área alterada)	18°58’48.5”S 48°17’45.8”W	-	2n=80 (8)	100% (n=4 G)	-

Anemopaegma arvense var. *puberula*	Faz. Água Limpa - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área alterada)	19°05’22”S 48°21’15”W	-	-	100% (n=18 D)	-
Anemopaegma arvense var. *puberula*	EEPanga - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área alterada)	19°10’53.52”S 48°23’25.51”W	HUFU-48931, 48938	-	86,36% (n=66 D)	-
Anemopaegma arvense var. *puberula*	PESCAN - Caldas Novas, GO/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo	17º46’45”S 48º40’26”W	HUFU-48834	2n=80 (20)	88,89% (n=18 D)	-
Anemopaegma arvense var. *puberula*	Botucatu, SP/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área alterada)	22°57’07.1”S 48°29’10.6”W	HUFU-50820	2n=80 (20)	78% (n=50 D)	-
Anemopaegma arvense var. *puberula*	Bauru, SP/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo limpo (área alterada)	22°19’32.7”S 49°00’34.3”W	HUFU-50821	2n=80 (20)	100% (n=9 D)	-
Anemopaegma glaucum	Serra do Cipó, Chapéu do Sol, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo rupestre	19°18’19.3”S 43°36’17.5”W	HUFU-44909, 44986	2n=80 (20)	98,38% (n=308 D)	SC (Firetti 2009)
Anemopaegma glaucum	Cristalina, GO/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo (área alterada)	16°52’35.1”S 47°40’42.8”W	HUFU-48936	2n=80 (20)	100% (n=13G)	-
Cuspidaria sceptrum	Serra do Cipó, Chapéu do Sol, MG/População natural, indivíduo 1	Subarbusto/ Cerrado, campo rupestre	19°18’20.2”S 43°36’12.3”W	HUFU-44912, 44913, 44988, 55212	-	0% (n=82 D)	-
Cuspidaria sceptrum	CCPIU - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo (área alterada)	18°58’48.5”S 48°17’45.8”W	HUFU-48836, 48930	2n=40 (23)	0% (n=29G)	SI (Cap. 5*)
Cuspidaria sceptrum	PESCAN - Caldas Novas, GO/ População natural, indivíduo 1	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo	17º46’45”S 48º40’26”W	HUFU-55509	2n=40 (21)	0% (n=34G)	-
Fridericia platyphylla	CCPIU - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo (área alterada)	18°58’48.5”S 48°17’45.8”W	HUFU-55490	-	0% (n=10 D)	-
Fridericia platyphylla	Faz. Campo Alegre - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, campo sujo (área utilizada para pastagem)	18°58’43.83”S 48°14’59.73”W	HUFU-47294	2n=40 (21)	2,13% (n=94 D)	SI (Cap. 5*), SC (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007)
Fridericia platyphylla	Faz. Água Limpa - Uberlândia, MG/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, cerrado sentido restrito	19°05’22”S 48°21’15”W	-	-	0% (n=9 D)	-
Fridericia platyphylla	EEPanga - Uberlândia, MG/ População natural, indivíduo 1	Subarbusto/ Cerrado, cerrado sentido restrito	19°10’41.94”S 48°23’21.54”W	HUFU-45000	-	0% (10 D)	-

Fridericia platyphylla	PESCAN - Caldas Novas, GO/ População natural, diferentes indivíduos	Subarbusto/ Cerrado, cerrado sentido restrito	17º46’45”S 48º40’26”W	HUFU-55497	2n=40 (21)	0% (n=11G)	-
Pyrostegia venusta	CCPIU - Uberlândia, MG/Indivíduos cultivados	Liana/ Cerrado, crescendo sobre a cerca ao lado de um campo sujo (área alterada)	18°58’51.77”S 48°17’54.16”W	HUFU-48929, 55493	2n=80 (20)	0% (n=30G)	SC (J. R. Souza, dados não publicados*, Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Sampaio & Almeida 1995)

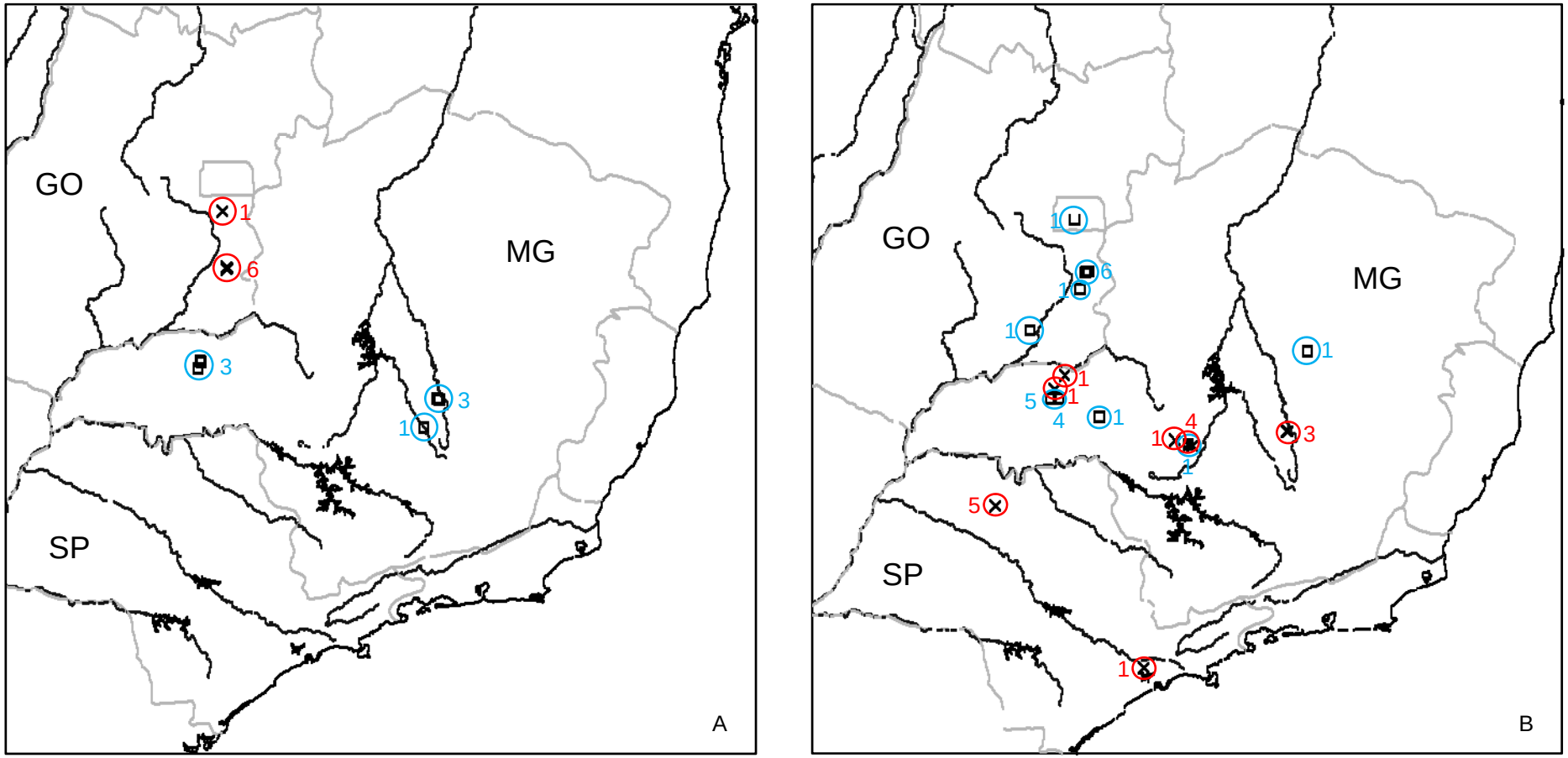

Figura 4. Mapas de distribuição de populações mono e poliembriônicas de duas espécies de *Handroanthus* estudadas nos Estados de Goiás, Minas Gerais e São Paulo. A. Mapa de distribuição das populações mono e poliembriônicas de *H. serratifolius*. B. Mapa de distribuição das populações mono e poliembriônicas de *H. ochraceus*. Os indivíduos monoembriônicos estão representados por um □ e circulados de azul. Os indivíduos poliembriônicos estão representados por um X e circulados de vermelho. Os números ao lado dos símbolos indicam o número de indivíduos amostrados em cada área.

diplóides e poliplóides (Tabela 1). *Handroanthus ochraceus* mostrou uma predominância de indivíduos diplóides e monoembriônicos no estado de Goiás e mais ao norte do estado de Minas Gerais, enquanto os poliembriônicos e poliplóides se concentram mais ao sul do estado de Minas Gerais e no estado de São Paulo (Tabela 1, Figura 4B). Uma sobreposição entre populações monoembriônicas e poliembriônicas foi observada no estado de Minas Gerais (Figura 4B). Embora todos os indivíduos de *H. serratifolius* tenham se mostrado hexaplóides (Tabela 1), não foi verificada sobreposição entre as populações poliembriônicas encontradas no estado de Goiás e as populações monoembriônicas encontradas em Minas Gerais (Figura 4A).

A maioria das espécies subarbustivas de Cerrado não apresentou poliembrionia ou modificações no sistema reprodutivo de autoincompatibilidade, exceto por *Fridericia platyphylla*, que possui população autofértil e pelas espécies de *Anemopaegma*, que são autoférteis e poliembriônicas (Tabela 1). Pôde-se observar que todas as espécies poliplóides são autoférteis, mas nem todas são poliembriônicas (Tabela 1, Figuras 4A). A autofertilidade não se mostrou dependente da poliploidia, também tendo sido observada em espécies diplóides e monoembriônicas (Tabela 1). Já as elevadas taxas de poliembrionia, acima de 50% de sementes poliembriônicas, ocorrerem em indivíduos ou populações poliplóides (Tabela 1).

Discussão

Nossos dados demonstraram que embora existam populações e espécies poliplóides de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado, elas podem ser constituídas de subarbustos, árvores ou lianas e que não existe uma ocorrência preferencial de poliploidia nas espécies subarbustivas desta família. Ao invés disso, pudemos verificar a ocorrência de poliploidia concentrada nos gêneros *Handroanthus*, *Anemopaegma* e *Pyrostegia*, sendo que a apomixia foi verificada nos dois primeiros, o que corrobora a hipótese de que as espécies apomíticas e poliplóides sejam determinadas filogeneticamente e não pelo habito ou habitat (Mogie 1992, Goldenberg & Shepherd 1998, Allem 2004). A tendência de alguns grupos dentro das famílias Asteraceae, Rosaceae, Poaceae e Melastomataceae em concentrar um grande número das espécies apomíticas (Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Goldenberg & Shepherd 1998, Allem 2004, Whitton *et al.* 2008), corrobora que existam pré-adaptações estabelecidas para a ocorrência de apomixia (Savidan 2007).

As cinco espécies subarbustivas de *Jacaranda* apresentaram o número cromossômico

diplóide constante para o gênero, de 2n=36 (Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998, Forni-Martins & Martins 2000, ver também Capítulo Introdutório), concomitantemente ao sistema de autoincompatibilidade com ausência de poliembrionia verificado para a maioria de suas espécies (Vieira *et. al.*1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Barbosa & Sazima 2008, Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Embora exista um registro de população poliplóide de *J. mimosifolia* (Pathak *et al.* 1949) e um de população autofértil de *J. oxyphylla* Cham. (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), não amostradas neste estudo, não foi possível estabelecer relação entre a quebra do sistema de autoincompatibilidade no gênero e a ocorrência poliploidia, de forma que investigações pontuais nas populações que apresentaram estas variações seriam necessárias.

Tecoma stans, planta arbórea que já havia sido reportada com 2n=36 (Piazzano 1998, Bowden 1940, 1945) e com autofertilidade em diferentes populações (Dutra & Machado 2001, Silva 2004, J. R. Souza, dados não publicados), teve o número cromossômico diplóide confirmado em duas populações autoférteis, indicando que nesta espécie a quebra do sistema de autoincompatibilidade não tem relação com a poliploidia. Para compreender melhor a origem da autofertilidade em *T. stans* o conhecimento do sistema reprodutivo de outras populações, principalmente de sua área nativa, seria importante. A detecção de populações autoincompatíveis em área de ocorrência nativa de *T. stans* poderia indicar que o fato de ser amplamente cultivada (Gentry 1992) pode ter influenciado na seleção por indivíduos autoférteis através de restrições no tamanho populacional ou da presença de populações com genomas muito semelhantes (Richards 1986, Igic *et al.* 2008). Por outro lado, a tribo Tecomeae apresenta mais duas espécies autoférteis sem sinal de poliploidia (ver Capítulo Introdutório), a arbustiva *Astianthus viminalis* (Kunth) Baill. (Bullock 1985) e a erva *Incarvillea sinensis* Lam. (Qu *et al.* 2007), podendo ocorrer alguma pré-disposição à quebra do sistema de autoincompatibilidade neste grupo. A tribo é amplamente dispersa, ocorrendo dos neotrópicos aos paleotrópicos e de regiões tropicais a temperadas do globo, e seus representantes apresentam grande variação no hábito (Olmstead *et al.* 2009) e no número cromossômico (ver Capítulo Introdutório), podendo ser um reflexo do isolamento de suas espécies, como das do gênero *Incarvillea* Jussieu que são restritas ao Himalaia, o que poderia contribuir para a seleção da autofertilidade.

Handroanthus impetiginosus, *H. vellosoi*, *Tabebuia aurea*, *T. rosea* e *Zehyeria montana*, pertencentes ao clado neotropical “Tabebuia Alliance”, o qual é composto por

árvores e arbustos (Olmstead *et al.* 2009), mostraram-se diplóides, monoembriônicas, e autoincompatíveis. Por outro lado, três outras espécies do gênero *Handroanthus* mostraram uma elevada proporção de indivíduos e populações poliplóides, autoférteis e apomíticos. A série euplóide 2n=40, 80, 120 ocorreu apenas neste gênero e o número cromossômico hexaplóide com 2n=120 foi detectado apenas em *H. serratifolius* (ver Capítulo introdutório). Uma associação entre citótipos poliplóides, autofertilidade e apomixia, bem como entre citótipos diplóides, autoincompatibilidade e ausência de apomixia foi verificada em populações de *H. ochraceus* no presente estudo. O registro de 2n=40 em populações cultivadas de *H. serratifolius* (Venkatasubban 1945, Simmonds 1954) indica que citótipos diplóides e hexaplóides ocorram na natureza, e que diplóides autoestéreis, hexaplóides autoférteis, e hexaplóides autoférteis e apomíticos possam ocorrer. Embora *H. chrysotrichus* pareça apresentar apenas populações tetraplóides (Piazzano 1998, Ortolani 2007), existe um registro de planta diplóide em meio a uma população poliplóide desta espécie, mas a origem do material utilizado na análise é controversa, visto que os autores dizem que plântulas de sementes poliembriônicas apresentam 2n=80 e de monoembriônicas 2n=40 (Ortolani 2007), mas não informam se estas sementes foram coletadas na mesma planta. As complicações taxonômicas próprias dessas espécies (Gentry 1992), a viabilidade de cruzamentos interespecíficos experimentais (Capítulo 2, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) e a ocorrência de apomixia vinculada à poliploidia indicam que estas espécies sejam alopoliplóides e possam compor diferentes complexos agâmicos poliplóides (Levin 2002, Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2008).

As espécies subarbustivas típicas de Cerrado da tribo Bignonieae, *Adenocalymma campicola* (Pilg.) L. Lohmann, *A. pedunculatum*, *A. peregrinum* (Miers) L. Lohmann, *Cuspidaria sceptrum* (Cham.) L. Lohmann e *Fridericia platyphylla* apresentaram populações diplóides, autoestéreis e monoembriônicas, como foi verificado para as espécies subarbustivas do gênero *Jacaranda*. Contudo, existem registros de populações autoestéreis (Amaral 1992, Capítulo 5) e autoférteis (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007) de *F. platyphylla* e *F. samydoides* (Cham.) L. Lohmann, uma liana, mas como não há relatos de poliploidia no gênero (ver Capítulo Introdutório), é possível que a quebra do sistema de autoincompatibilidade nestas populações não tenha qualquer tipo de relação com a poliploidia e possa ser causada por mutações gênicas fixadas por fatores ecológicos. Como a presença de polinizadores parece não ser problema nas populações autoférteis (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), é possível que elevadas taxas de geitonogamia decorrentes do elevado número

de flores por planta (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007) possam ter favorecido a fixação da autofertilidade nessas populações.

Por outro lado, os representantes da tribo Bignonieae, *Anemopaegma acutifolium* DC., *A. arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza e *A. glaucum* Mart. ex DC., subarbustos típicos do Cerrado, e a liana *Pyrostegia venusta*, considerada uma invasora de culturas e pastagens, mostraram-se poliplóides e autoférteis no presente estudo como em outras populações já analisadas (Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Firetti 2009), bem como em *A. scabriusculum* (Firetti 2009). Embora os dois gêneros sejam considerados grupos irmãos (Lohmann 2006), a presença de uma população diplóide de *P. venusta* (Piazzano 1998), e de espécies diplóides (Venkatasubban 1944 *apud* Goldblatt & Gentry 1979, Goldblatt & Gentry 1979, Firetti 2009) e autoincompatíveis (Amaral 1992, Correia *et al.* 2006, Carvalho *et al.* 2007) de *Anemopaegma*, indicam que a poliploidia vinculada à autofertilidade tenha se desenvolvido em momentos diferentes no gênero *Anemopaegma* e na espécie *P. venusta* (Lohmann, no prelo). É possível que as espécies estudadas de *Anemopaegma* sejam alopoliplóides devido à provável presença de híbridos no gênero (Ferreira 1973, Firetti 2009), o que justificaria a ocorrência de poliembrionia decorrente de apomixia (Carman 1997, 2007, Capítulo 3). Não parece provável que o hábito subarbustivo seja o fator desencadeador das mudanças no sistema reprodutivo das espécies de *Anemopaegma*, já que estas mudanças não se repetem nos demais subarbustos de Bignoniaceae estudados e sim em árvores, mas podem ter ocorrido simultaneamente à evolução do hábito subarbustivo no gênero.

No caso de *P. venusta*, é possível que tenha ocorrido uma autopoliploidização devido ao gênero ser constituído apenas por duas espécies, e *P. millingtonioides* Sandwith ter uma distribuição extremamente restrita (Lohmann, no prelo), dificultando o contato entre as duas espécies, além de não existirem relatos de indivíduos de morfologia intermediária entre elas. A autopoliploidização, por sua vez, promoveria a quebra do sistema de autoincompatibilidade, mas não a expressão da apomixia (Carman 1997, 2007). Situação semelhante é descrita para *Ranunculus auricomus* L. (Ranunculaceae), onde os alopoliplóides são apomíticos, enquanto os autopoliplóides não apresentam sinal de apomixia (Hörandl & Paun 2007).

Poliploidia como um estímulo à expressão da apomixia esporofítica - A poliembrionia é um indicativo de apomixia esporofítica/embrionia adventícia na maioria dos casos, embora a aposporia (apomixia gametofítica) ou algum processo sexuado também possam originar mais de um embrião por semente (Maheshwari 1950, Richards 1986, Asker & Jerling 1992,

Koltunow 1993, Carmo-Oliveira 1998, Goldenberg & Shepherd 1998, Batygina 1999a e b, Koltunow & Grossniklaus 2003, Whitton *et al.* 2008). A origem nucelar ou tegumentar dos embriões supranumerários é conhecida para *Handroanthus ochraceus* (Costa *et al.* 2004) e *H. chrysotrichus* (Souza *et al.* 2005, Bittencourt Júnior, dados não publicados), e também foi determinada para *Anemopaegma acutifolium* (Capítulo 3), podendo haver algum tipo de pré-adaptação para a apomixia esporofítica na família. A expressão da apomixia esporofítica em Bignoniaceae é vinculada à presença de poliploidia, como já verificado para outras famílias de plantas tropicais perenes, como Malvaceae - Bombacoideae (Baker 1960, Oliveira *et al.* 1992, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) e Melastomataceae - Miconieae (Goldenberg & Shepherd 1998).

Visto que a maior parte de espécies com apomixia esporofítica são tidas como diplóides (Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Whitton *et al.* 2008), a constatação de que determinados grupos de plantas tropicais perenes requerem a poliploidização para a expressão desse caráter pode indicar que o controle gênico da apomixia esporofítica seja semelhante ao postulado para a apomixia gametofítica, através da expressão assincrônica de genes duplicados (Carman 1997, 2007). No caso da embrionia adventícia, a expressão assincrônica dos genes poderia levar a um estímulo da embriogênese em células nucelares e tegumentares antes e depois da polinização, acarretando uma semente madura com embriões em diferentes estágios de desenvolvimento (Costa *et al.* 2004, Capítulo 3, Bittencourt Júnior, dados não publicados).

As elevadas frequências de sementes poliembriônicas (de 50 a 100%) estiveram presentes em indivíduos ou populações poliplóides dos gêneros *Handroanthus* e *Anemopaegma*, enquanto de 2 a 4% de sementes poliembriônicas foram observadas em populações diplóides de *H. ochraceus* e *Fridericia platyphylla*. A assincronia na expressão dos genes provenientes de diferentes genomas, decorrente de hibridações, poderia levar à expressão da apomixia em populações poliplóides, mas em populações diplóides tal assincronia seria evitada e a apomixia poderia ser expressa de forma ocasional (Carman 2007), sendo que as populações com reduzida frequência de sementes poliembriônicas em Bignoniaceae podem ser híbridos diplóides. Esta hipótese parece não se aplicar a *F. platyphylla*, que não possui relatos de hibridação ou de indivíduos intermediários com outras espécies, sendo mais viável a ocorrência esporádica de dois megagametófitos reduzidos por óvulo ou clivagem do embrião zigótico, mas pode ser verdadeira para *H. ochraceus*. Na população de *H. ochraceus* entre os municípios de Araxá e Luz, Minas Gerais, um dos

indivíduos apresentou 2% de sementes poliembriônicas e foi diplóide, enquanto outro apresentou cerca de 25%, e os outros quatro indivíduos apresentaram acima de 50% de sementes poliembriônicas, mas não tiveram a ploidia estabelecida devido à inviabilidade de suas sementes para a germinação (Tabela 1, Figura 4B). Caso os outros indivíduos da população também sejam diplóides, a expressão assincrônica dos genes pode ter ocorrido sem a duplicação do genoma (Carman 2007), mas essa especulação necessita de confirmações.

Apesar de todas as espécies ou populações com elevadas porcentagens de sementes poliembriônicas terem se mostrado poliplóides, *Pyrostegia venusta* e algumas populações de *Handroanthus serratifolius* são poliplóides e autoférteis, mas não apresentaram poliembrionia (Tabela 1, Figura 4A). Isso evidencia que embora a poliploidia seja essencial à expressão efetiva da apomixia (Richards 1986, 2003, Goldenberg & Shepherd 1998, Oliveira *et al.* 1992, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005 Carman 1997, 2007, Talent & Dickinson 2007, Whitton *et al.* 2008), apenas a poliploidia não é suficiente para que ela seja expressa (Carman 2007). A apomixia deve poder ser desencadeada na maioria das espécies de plantas, mas só poderia ser expressa em um número limitado, indicando que pré-adaptações podem agrupar a apomixia em determinados clados (Savidan 2007). As referidas pré-adaptações podem consistir na combinação de dois genomas distintos que sejam diferentes o bastante para permitir a expressão assincrônica de genes em alopoliplóides e levar à expressão da apomixia (Carman 2007). Isso implicaria, no caso de *H. serratifolius*, na existência de diferentes linhagens hexaplóides formadas por eventos de hibridação distintos, como relatado para Asteraceae e Rosaceae (Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2008), que levariam ou não à expressão da apomixia. Ou ainda, na presença de linhagens formadas por alopoliploidização e outras por autopoliploidização, sendo as primeiras capazes de expressar a apomixia e as demais não (Hörandl & Paun 2007).

Poliploidia e quebra do sistema de autoincompatibilidade – Embora algumas espécies diplóides de Bignoniaceae sejam autoférteis, a poliploidia parece quebrar o sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) em todos os casos observados nesta família. Já que a poliploidia parece capaz de quebrar apenas os sistemas de autoincompatibilidade gametofíticos (GSI) (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002, Pannell *et al*. 2004, Barringer 2007), pode ser que o controle gênico desses dois sistemas apresente alguma semelhança importante (Richards 1986, Sage *et al.* 1994, Allen & Hiscock 2008).

No caso das espécies apomíticas e pseudogâmicas, a necessidade de fecundação para o desenvolvimento do endosperma e a condição de LSI, que retarda a queda do pistilo

autopolinizado, viabilizariam o tempo e a nutrição necessários ao desenvolvimento dos embriões adventícios que, por sua vez, podem impedir o aborto do pistilo (Oliveira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). Como a poliploidia se mostrou essencial à expressão da apomixia esporofítica em Bignoniaceae e ela pode quebrar o LSI, é difícil afirmar que a autofertilidade observada nas espécies apomíticas seria promovida apenas pela pseudogamia (Allem 2004) e pelo desenvolvimento dos embriões adventícios, já que a poliploidia esta atuando.

As espécies autoférteis de Bignoniaceae apresentam, em geral, uma porcentagem de conversão de flores em frutos em condições naturais e experimentais superior à de espécies autoestéreis (Bullock 1985, Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Dutra & Machado 2001, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Qu *et al.* 2007, Capítulos 3, 4, 5, 6). A autofertilidade em espécies apomíticas pseudogâmicas pode aumentar a eficácia reprodutiva da planta, visto que muitos pistilos deixam de ser abortados com a ocorrência natural de autogamia ou geitonogamia (Hörandl & Paun 2007, Hörandl 2010). No caso de polinizações cruzadas manuais, a ocorrência de polinizações de baixa qualidade, como por exemplo, provenientes de indivíduos irmãos, também viabilizaria o desenvolvimento da semente com um embrião zigótico inviável ou pouco vigoroso devido à presença do endosperma e dos embriões adventícios (Costa *et al.* 2004, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados).

Em ambientes onde a polinização cruzada não for favorável, a autofertilidade garante a manutenção da reprodução sexuada, bem como o desenvolvimento dos embriões clonais no caso de pseudogamia (Richards 1986, Hörandl & Paun 2007, Igic *et al.* 2008). A alopoliploidia, ainda favoreceria o desenvolvimento de embriões sexuados nos casos de autofecundação, pois devido à sua maior variabilidade genética poderia evitar a ocorrência de depressão endogâmica (Barringer 2007, Husband *et al.* 2008). Assim, autofertilidade e alopoliploidia devem ser fatores que, juntamente à apomixia, propiciam a manutenção e a ampla distribuição dos complexos agâmicos poliplóides.

Complexos agâmicos poliplóides - Os complexos agâmicos poliplóides são formados quando hibridação, poliploidia e apomixia ocorrem num mesmo grupo de plantas, acarretando em diferentes citótipos que apresentam diferenças morfológicas e variações em seus sistemas reprodutivos, constituindo um grande desafio para seu tratamento taxonômico (Nogler 1984, Stebbins 1971, Levin 2002, Soltis *et al.* 2007, 2009, Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2007). A presença de diferentes citótipos com diferentes sistemas reprodutivos e

grandes complicações taxonômicas devido à variabilidade morfológica em algumas espécies de *Handroanthus* e *Anemopaegma* (Ferreira 1973, Gentry 1992, Firetti 2009) indicam que elas pertençam a complexos agâmicos poliplóides. A grande variabilidade morfológica nos complexos é decorrente de hibridações entre espécies parentais diplóides que dão origem às séries poliplóides (Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2007). O sucesso das hibridações experimentais em espécies de *Handroanthus* e *Anemopaegma* (Bittencourt Júnior 2003, Firetti 2009), inclusive entre diferentes citótipos (Capítulo 2), também indica que cruzamentos de diferentes linhagens entre si e com seus parentais diplóides estejam presentes na evolução dos complexos agâmicos poliplóides de Bignoniaceae, como de outras famílias de angiospermas (Asker & Jerling 1992, Levin 2002, Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2007, Hörandl & Paun 2007).

Plantas com apomixia esporofítica e aposporia possuem a capacidade de continuar se reproduzindo sexuadamente, visto que o desenvolvimento do megagametófito reduzido não é alterado, e que suas espécies são pseudogâmicas, necessitando da fecundação para o desenvolvimento do endosperma (Richards 1986, 2003, Asker & Jerling 1992, Allem 2004, Whitton *et al.* 2008). A reprodução sexuada garante a manutenção e o incremento na variabilidade genética das espécies pertencentes a complexos agâmicos poliplóides, sendo essencial à sua evolução e evitando que a apomixia e autofertilidade restrinjam a formação de novas linhagens (Batygina 1999a e b, Allem 2004, Hörandl & Paun 2007, Whitton *et al.* 2008). A ampla distribuição dos complexos agâmicos poliplóides pode ocorrer devido à associação de uma elevada variabilidade genética, decorrente dos processos de hibridação e da manutenção da reprodução sexuada (Batygina 1999a e b, Hörandl & Paun 2007), com vantagens decorrentes de autofertilidade e apomixia no estabelecimento de novas populações (Richards 1986, 2003, Asker & Jerling 1992, Hörandl & Paun 2007, Whitton *et al.* 2008).

Das três espécies poliplóides de *Handroanthus*, *H. ochraceus* e *H. serratifolius* são as espécies de flores amarelas mais amplamente distribuídas do gênero (Gentry 1992, Figura 5). *Handroanthus ochraceus* subsp. *ochraceus* é um elemento típico do Cerrado, podendo ocorrer em biomas adjacentes, mas nunca em matas fechadas, embora as demais subespécies ocorram em matas semidecíduas (Figura 5). *Handroanthus serratifolius* é considerada ecologicamente diversa, devido à variedade de habitats em que ocorre, incluindo matas e Cerrado (Figura 5) (Gentry 1992, Grose & Olmstead 2007a). *Handroanthus chrysotrichus*, por sua vez, possui ocorrência mais restrita, indo da Mata Atlântica da costa brasileira à Argentina (Gentry 1992, Figura 5), o que juntamente ao número cromossômico e comportamento reprodutivo

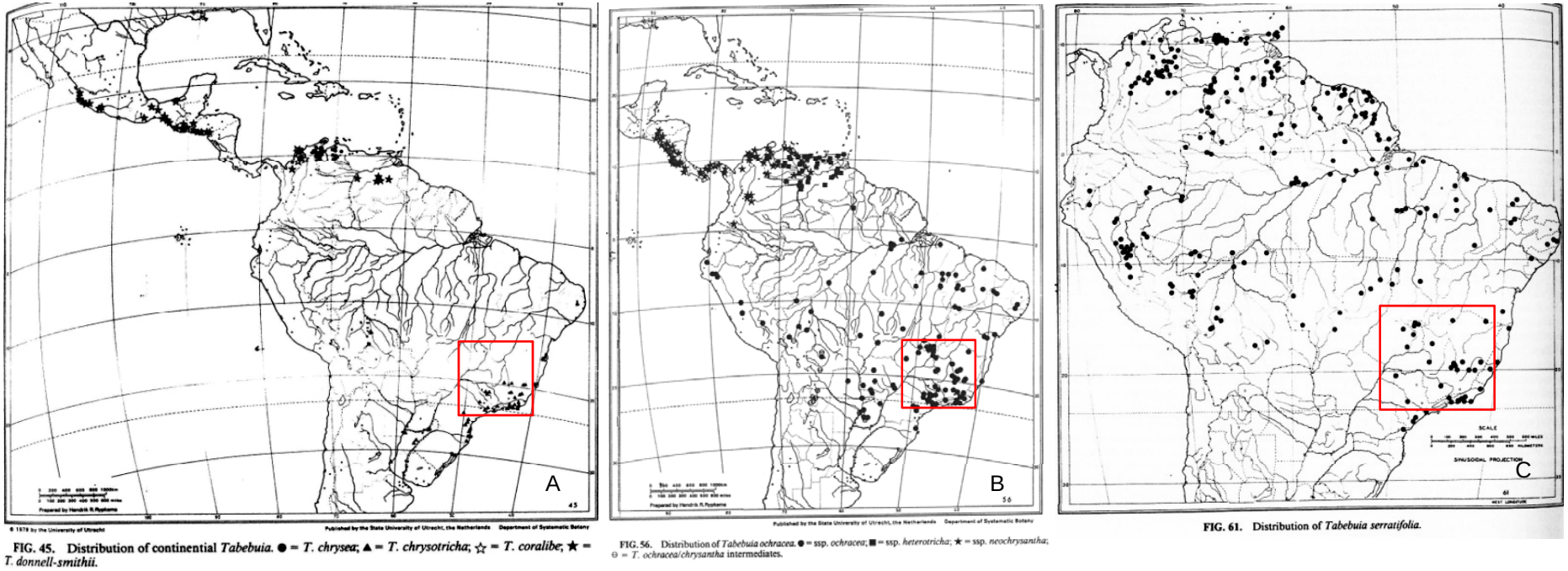

Figura 5. Mapas de distribuição de *Handroanthus chrysotrichus*, *H. ochraceus* e *H. serratifolius* compilados de Gentry (1992) e acompanhados das legendas originais. A. *Handroanthus chrysotrichus*. B. *Handroanthus ochraceus*. C. *Handroanthus serratifolius*. A área destacada em vermelho delineia a ocorrência das populações amostradas neste estudo.

constantes observados entre este e os demais trabalhos com a espécie (Piazzano 1998, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Ortolani 2007), pode indicar que ela seja uma linhagem totalmente poliplóide que se diferenciou dos parentais diplóides e se estabeleceu como uma nova espécie (Stebbins 1971, Levin 2002).

A semelhança nas características florais das várias espécies de ipê-amarelo e a polinização compartilhada por uma guilda de abelhas grandes (Oliveira & Gibbs 2002, ver Capítulo Introdutório) pode ter facilitado os eventos de hibridação no gênero *Handroanthus*. A ocorrência de poliplóides de *H. ochraceus* ao sul de Minas Gerais e no Estado de São Paulo e de diplóides ao Norte de Minas Gerais e em Goiás (Figura 5), marcando a área de transição entre a Mata Atlântica e o Cerrado, indica que eventos de hibridação possam ter ocorrido nesta interface entre floresta e cerrado. Diferenças no genoma das espécies de biomas distintos podem ter levado à expressão assincrônica dos genes que expressam a apomixia (Carman 1997, 2007). A sobreposição entre citótipos diplóides e poliplóides dessa espécie sugere que eles não sejam muito distintos ecologicamente (Levin 2002), e pode gerar um acréscimo de variabilidade genética em suas populações devido ao cruzamento entre os citótipos (Petit *et al.* 1999, Daurelio *et al.* 2004, Hörandl & Paun 2007, Capítulo 2). *Handroanthus chrysotrichus* pode ser o resultado de cruzamentos entre de *H. ochraceus* com alguma outra espécie congenérica nessa região (Figura 5), pois os exemplares de *H. chrysotrichus* e *H. ochraceus* são frequentemente confundidos uns com os outros e indivíduos de morfologia intermediária parecem estar presentes, podendo *H. chrysotrichus* ser até reconhecida como uma subespécie de *H. ochraceus* (Gentry 1992). Diferentemente do citótipo tetraplóide de *H. ochraceus*, *H. chrysotrichus* deve diferir morfológica e ecologicamente de seus parentais diplóides, o que pode ter feito com que fosse reconhecida como uma espécie e não uma variedade de *H. ochraceus*, e justificaria sua expansão para habitats como florestas com distúrbios (Levin 2002).

A ocorrência em diversos habitats e grande variabilidade morfológica de *H. serratifolius* (Gentry 1992) deve refletir a diversidade de citótipos e de comportamentos reprodutivos da espécie, como observado para complexos agâmicos em Asteraceae (Bayer & Chandler 2007). Tal variação morfológica pode indicar que os citótipos poliplóides tenham se originado a partir de diferentes eventos de hibridação entre os parentais diplóides (Stebbins 1971, Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Levin 2002, Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2007) e justificaria a ocorrência de hexaplóides apomíticos e não apomíticos nesta espécie. As populações diplóides e provavelmente autoincompatíveis de *H. serratifolius*

foram estudadas em plantas cultivadas em outros países (Venkatasubban 1945, Simmonds 1954) e uma investigação mais ampla deve ser feita para localizar estes e outros citótipos em sua área de ocorrência natural e compreender melhor a evolução do complexo agâmico poliplóide.

A presença de espécies com apenas citótipos tetraplóides autoférteis e apomíticos registrados no complexo Anemopaegma arvense do gênero *Anemopaegma* (Firetti 2009, presente estudo) pode sugerir que as linhagens inteiramente poliplóides representem especiações dentro dos complexos agâmicos (Soltis *et al.* 2007, 2009). *Anemopaegma arvense*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum* Mart. ex DC. são típicas de Cerrado, mas *A. acutifolium* e outras espécies do gênero também podem ocorrer em matas (Lohmann, no prelo). É possível que tenha ocorrido fluxo gênico entre espécies de lianas ocorrentes em mata e Cerrado e que as espécies poliplóides e apomíticas possam ter se adaptado a nichos diferentes de seus parentais diplóides (Levin 2002), como por exemplo, a adaptação a um novo estrato vegetacional na condição subarbustiva, o que pode ter favorecido o isolamento reprodutivo de seus parentais diplóides e o estabelecimento dos poliplóides como novas espécies.

A poliploidia foi encontrada nos gêneros *Anemopaegma*, *Handroanthus* e *Pyrostegia*, parecendo ter uma influência mais filogenética do que dependente da forma de vida ou habitat, como também foi verificado para Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998), e ocorrendo em clados que possuam alguma pré-disposição a expressar a apomixia (Savidan 2007). Tais pré-disposições poderiam estar relacionadas a clados mais permissivos quanto à ocorrência de cruzamentos interespecíficos entre espécies de genomas distintos o bastante para permitir a expressão da apomixia (Carman 2007). O LSI típico da família Bignoniaceae não é alterado com a transição para o estrato herbáceo e subarbustivo, visto que os órgãos subterrâneos de plantas subarbustivas podem garantir a adaptação da planta a esse novo estrato e as pressões concernentes a ele.

Por outro lado, a transição para a forma herbácea pode requerer a mudança de LSI para a autofertilidade e estar relacionada a grandes perdas de cromossomos, como pode ser ocaso de *Incarvillea sinensis* (Qu *et al.* 2007). Para se considerar a existência de algum padrão de redução do número cromossômico e quebra do sistema de autoincompatibilidade, investigações dos demais representantes herbáceos dos gêneros *Incarvillea* e *Argylia* (Gentry 1980, Olmstead *et al*. 2009), que apresentam 2n=22 e 2n=30 cromossomos, respectivamente (ver Capítulo Introdutório), devem ser realizadas.

A relação entre poliploidia e apomixia gametofítica é bastante comum, enquanto as espécies com apomixia esporofítica são normalmente diplóides, como espécies de *Citrus*, *Nothoscordum*, *Sarcococca* e *Euphorbia* (Asker & Jerling 1992). Entretanto, em plantas tropicais perenes como as Bignoniaceae aqui estudadas, as Malvaceae - Bombacoideae (Baker 1960, Oliveira *et al.* 1992, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) e as Melastomataceae - Miconieae (Goldenberg & Shepherd 1998), a associação entre poliploidia e apomixia esporofítica foi verificada e pode representar um novo campo de investigações. A ocorrência de apomixia esporofítica vinculada à poliploidia em plantas tropicais perenes favorece a coocorrência de três tipos de reprodução numa mesma planta, reprodução clonal via apomixia e produção de embriões zigóticos a partir de autofecundações ou fecundações cruzadas (Batygina 1999a e b). Essa combinação de possibilidades de reprodução via semente parece ser vantajosa para as plantas, podendo incrementar a variabilidade genética numa dada população e estimular a formação de novas linhagens e espécies dentro dos complexos agâmicos poliplóides (Allem 2004, Hörandl & Paun 2007, Good-Avila *et al.* 2008). Dessa forma, a formação de complexos agâmicos poliplóides pode contribuir mais para a diversidade das espécies de plantas tropicais perenes que os próprios sistemas de autoincompatibilidade controlados geneticamente (Allem 2004, Hörandl & Paun 2007).

Referências Bibliográficas

Allem, A. C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long term evolutionary prospects in the angiosperms. **The Botanical Review** 69: 225-251.

Allen, A. M. & Hiscock, S. J. 2008. Evolution and phylogeny of self-incompatibility systems in angiosperms. In: Franklin-Tong, V. (ed.). p. 73-102. **Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms.** Springer-Verlag, Berlin.

Amaral, M. E. C. 1992. Ecologia floral de dez espécies da Tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semidecídua no município de Campinas, SP. **Tese de Doutorado**, Departamento de Ecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Asker, S. E. & Jerling, L. 1992. **Apomixis in plants**. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Baker, H. G. 1960. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). **American Journal of Botany** 47: 296-302.

Barbosa, A. A. A. & Sazima, M. 2008. Biologia reprodutiva de plantas herbáceo-arbustivas de uma área de campo-sujo de Cerrado. In: Sano, S. M., Almeida, S. P. & Ribeiro, J. F.

(eds.). p. 291-318. **Cerrado: Ecologia e Flora,** vol. 1. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, e Embrapa Cerrados, Planaltina.

Barringer, B. C. 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. **American Journal of Botany** 94: 1527-1533.

Barros, M. G. 2001. Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth & Hook and *T. ochracea* (Cham). Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 255-261.

Batygina, T. B. 1999a. Genetic heterogeneity of seeds in terms of embryology. **Russian Journal of Plant Physiology** 46: 374-388.

Batygina, T. B. 1999b. Genetic heterogeneity of seeds. **Acta Biologica Cracoviensia** 41: 39-50.

Bawa, K. S. 1974. Breeding systems of tree species of lowland tropical community. **Evolution** 28: 85-92.

Bawa, K. S. & Webb, C. J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: Implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. **American Journal of Botany** 71: 736-751.

Bayer, R. J. & Chandler, G. T. 2007. Evolution of polyploid agamic complexes: a case study using the *Catipes* group of *Antennaria*, including the *A. rosea* complex (Asteraceae: Gnaphalieae). In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 317-336. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Autoincompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2004. Pollination biology and breeding system of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae). **Plant Systematics and Evolution** 247: 241-254.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2005. Late-acting, self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). **International Journal of Plant Sciences** 166: 493-506.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2006. Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). **Australian Journal of Botany** 54: 315-324.

Bowden, W. M. 1940. Diploidy, polyploidy, and winter hardiness relationships in the flowering plants. **American Journal of Botany** 27: 357-371.

Bowden, W. M. 1945. A list of chromosome numbers in higher plants. I. Acanthaceae to Myrtaceae. **American Journal of Botany** 32: 81-92.

Bullock, S. H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. **Biotropica** 17: 287-301.

Carman, J. G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society** 61: 51-94.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Carmo-Oliveira, R. 1998. Estudos embriológicos e aspectos da morfologia floral em Vochysiaceae. **Tese de Doutorado**, Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brasil.

Carvalho, A. T., Santos-Andrade, F. G. & Schlindwein, C. 2007. Baixo sucesso reprodutivo em *Anemopaegma laeve* (Bignoniaceae) no Parque nacional do Catimbau, Pernambuco. **Revista Brasileira de Biociências** 5: 102-104.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. B. & Lima, H. A. 2006. Biologia floral e polinização de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae). **Lundiana** 7: 39-46.

Costa, M. E., Sampaio, D. S., Paoli, A. A. S., & Leite, S. C. A. L. 2004. Poliembrionia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 395-406.

Daurelio, L. D.; Espinoza, F.; Quarin, C. L. & Pessino, S. C. 2004. Genetic diversity in sexual diploid and apomictic tetraploid populations of *Paspalum notatum* situated in sympatry or allopatry. **Plant Systematics and Evolution** 244: 189-199.

De Nettancourt, D. 1977. **Incompatibility Systems in Angiosperms**. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

Dutra, J. C. S. & Machado, V. L. L. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante seu período de floração. **Neotropical Entomology** 30: 43-53.

Ellstrand, N. C. & Schierenbeck, K. A. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? **PNAS** 97:7043-7050.

Ferreira, M. B. 1973. Bignoniaceae do Distrito Federal - I. O gênero *Anemopaegma* Mart. **Oréades** 4: 28-39.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Forni-Martins, E. & Martins, F. R. 2000. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetic and Molecular Biology** 23: 947-955.

Gentry, A. H. 1980. Bignoniaceae - Part. I. (Crescentieae and Tourrettieae). **Flora Neotropica** Monog. 25: 1-130.

Gentry, A. H. 1992. Bignoniaceae - Part. II. (Tribe Tecomae). **Flora Neotropica** Monog. 25(II): 1-370.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibily. **Botanica Acta** 106: 64-71.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LST: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. **Annals of Botany** 84: 449-457.

Gobatto-Rodrigues, A. A. & Stort, M. N. S. 1992. Biologia floral e reprodução de *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 15: 37-41.

Goldblatt, P. & Gentry, A. H. 1979. Cytology of Bignoniaceae. **Botanical Notiser** 132: 475-482.

Goldenberg, R. & Shepherd, G. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. **Plant Systematics and Evolution** 211:13-29.

Good-Avila, S. V., Mena-Alí, J. I. & Stephenson, A. G. 2008. Genetic and environmental causes and evolutionary consequences of variations in self-fertility in self-incompatible species. In: Franklin-Tong, V. (ed.). p. 33-52. **Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms**. Springer-Verlag, Berlin.

Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberber, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american tropical seasonal ecosystem**. Vol. 1: origin, structure, dynamics and plant use. Ulm: Reta Verlag, Germany.

Grose, S. O. & Olmestad, R. G. 2007a. Evolution of a charismatic neotropical clade: molecular phylogeny of *Tabebuia* s.l., Crescentieae, and allied genera (Bignoniaceae). **Systematic Botany** 32: 650-659.

Grose, S. O. & Olmestad, R. G. 2007b. Taxonomic revision in the polyphiletic genus

Tabebuia s.l. (Bignoniaceae). **Systematic Botany** 32: 660-670.

Guerra, M. 1983. O uso do Giemsa em citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandeamento**. Ciência e Cultura** 35: 190-193.

Guerra, N. A. & Natera, R. M. 2007. Chromosome numbers tree *Tabebuia* species (Bignoniaceae). **Nordic Journal of Botany** 25: 359-360.

Guimarães, E., Di Stasi, L. C. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2008. Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. **Annals of Botany** 102: 699–711

Hörandl, E. & Paun, O. 2007. Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials. In: Hörandl, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 169-194. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Husband, B. C., Ozimec, B., Martin, S. L. & Pollock, L. 2008. Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: current trends and insights from syntetic polyploids. **International Journal of Plant Sciences** 169: 195-206.

Igic, B., Lande, R. & Kohn, J. R. 2008. Loss of self-incompatibility and its evolutionary consequences. **International Journal of Plant Sciences** 169: 93-104.

James, E. A. & Knox, R. B. 1993. Reproductive biology of the Australian species of the genus *Pandorea* (Bignoniaceae). **Australian Journal of Botany** 41: 611-626.

Koltunow, A. M. 1993. Apomixis: embryo sac and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The Plant Cell** 5: 1425-1437.

Koltunow, A. M. & Grossniklaus, U. 2003. Apomixis: A developmental perspective. **Annual Review of Plant Biology** 54: 547-574.

Lakshmanan, K. K. & Ambegaokar, K. B. 1984. Polyembryony. In: Johri, B. M. (ed.). p. 445-474. **Embryology of Angiosperms**, Springer-Verlag, Berlin.

Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford.

Lohmann, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignonieae, Bignoniaceae). **American Journal of Botany** 93: 304-318.

Lohmann, L. G. No prelo. A new generic classification of Bignonieae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. **Annals of the Missouri Botanical Garden**.

Maheshwari, P. 1950. **An Introduction to the Embryology of Angiosperms**. Tata McGraw-

Hill, New Dehli.

Maués, M. M., Oliveira, P. E. A. M. & Kanashiro, M. 2008. Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the "Floresta Nacional do Tapajós", Central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** 31: 517-527.

Mehra, P. N. & Bawa, K. S. 1969. Chromosomal Evolution in Tropical Hardwoods. **Evolution** 23: 466-481.

Mendes-Rodrigues, C., Carmo-Oliveira, R., Talavera, S., Arista, M., Ortiz, P. L. & Oliveira, P. E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombocoideae). **Plant Biology** 7: 533-540.

Milet-Pinheiro, P. & Schlindwein, C. 2009. Pollination in *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae): euglossine pollinators, nectar robbers and low fruit set. **Plant Biology** 11: 131-141.

Miranda, H. S., Bustamante, M. C. & Miranda, A. C. 2002. The fire factor. In: P. S. Oliveira, R. J. Marquis, eds. p. 51-68. **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna.** Columbia University Press, New York.

Mogie, M. 1992. **The evolution of asexual reproduction in plants.** Chapman & Hall, London.

Morawetz, W. 1986. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution** 152: 49-100.

Nogler, G. A. 1984. Gametophytic apomixis. In: Johri, B. M. (ed.). p. 475-518. **Embryology of Angiosperms**, Springer-Verlag, Berlin.

Oliveira, P. E. 1994. Aspectos da reprodução de plantas de Cerrado e conservação. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer** 1: 34-45.

Oliveira, P. E. 1998. Sistemas de incompatibilidade: idéias a partir de plantas do Cerrado. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer** 2: 89-102.

Oliveira, P. E. 2008. Fenologia e biologia reprodutiva das espécies de Cerrado. In: Sano, S. M., Almeida, S. P. & Ribeiro, J. F. (eds.). p. 273-290. **Cerrado: Ecologia e Flora,** vol. 1. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, e Embrapa Cerrados, Planaltina.

Oliveira, P. E. & Gibbs, P. E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a Cerrado community of Central Brazil. **Flora** 195: 311-329.

Oliveira, P. E. & Gibbs, P. E. 2002. Pollination and reproductive biology in cerrado plant communities. In: **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna** (P.S. Oliveira, R.J. Marquis, eds.), Columbia University Press, New York. p. 329-347

Oliveira, P. E., Gibbs, P. E., Barbosa, A. A. & Talavera, S. 1992. Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the brazilian cerrados. **Plant Systematics and Evolution** 179: 207-219.

Olmstead, R. G., Zjhra, M. L., Lohmann, L. G., Grose, S. O. & Eckert, A. J. 2009. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. **American Journal of Botany** 96: 1731–1743.

Ortolani, F. A. 2007. Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipês (Bignoniaceae). **Tese de Doutorado**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, SP.

Pannell, J. R., Obbard, D. J. & Buggs, R. J. A. 2004. Polyploidyand the sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua*? **Biological Journal of the Linnean Society** 82: 547-560.

Pathak, G. N., Singh, B., Tiwari, K. M., Srivastava, A. N. & Pande, K. K. 1949. Chromossome numbers in some angiopermous plants. **Current Science** 18: 347.

Petit, C., Bretagnolle, F. & Fleber, F. 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. **Trends in Ecology and Evolution** 14:1-6.

Piazzano, M. 1998. Números cromosómicos en Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** 26: 179-189.

Qu, R., Li, X., Luo, Y., Dong, M., Xu, H., Chen, X. & Dafni, A. 2007. Wind-dragged corolla enhances self-pollination: a new mechanism of delayed self-pollination. **Annals of Botany** 100: 1155–1164.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 29: 467-501.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 33: 589-639.

Richards, A. J. 1986. **Plant Breeding Systems**. George Allen & Unwin, London.

Richards, A. J. 2003 Apomixis in flowering plants: an overview. **Philosophical Transactions of the Royal Society-Biological Sciences** 358:1085-1093.

Sage, T. L., Bertin, R. I. & Williams, E. G. 1994. Ovarian and other late-acting self-incompatibility systems. In: E. G. Williams et al. (eds.), p. 116-140. **Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Salomão, A. N. & Allem, A. C. 2001. Polyembryony in angiosperm trees of the brazilian

cerrado and caatinga vegetation. **Acta Botânica Brasilica** 15: 369-378.

Sampaio, E. S.& Almeida, A. A. 1995. Morfologia floral e biologia reprodutiva de *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae), na região urbana de Curitiba, Paraná. **Acta Biol.** 24: 25-38.

Sampaio, D. S., Costa, M. E. & Paoli, A. A. S. 2007. Ontogenia da semente de *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 30: 295-307.

Sarmiento, G. & Monasterio, M. 1983. **Ecosystems of the world: tropical savannas**. Elsevier, Amsterdan.

Savidan, Y. 2007. Apomixis in higher plants. In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 15-22. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Silva, C. I. 2004. Morfo-anatomia, biologia floral e reprodutiva de *Tecoma stans* (L.) Kunth (Bignoniaceae). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

Simmonds, N. W. 1954. Chromosome behavior in some tropical plants. **Heredity** 8: 139-146.

Soltis, D. E., Soltis, P. S., Schemske, D. W., Hancock, J. F., Thompson, J. N., Husband, B. C. & W. S. Judd. 2007. Autopolyploidy in angiosperms: have we grossly underestimated the number of species? **Taxon** 56: 13-30.

Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C., Sankoff, D., Pamphilis, C. W., Kerr Wall, P. & Soltis, P. S. 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. **American Journal of Botany** 96: 336-348.

Souza, L. A., Iwazaki, M. C. & Moscheta, I. S. 2005. Morphology of pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC) Stand. (Bignoniaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 48: 407-418.

Stebbins, G. L. 1971. **Chromosomal Evolution in Higher Plants**. J. W. Arrowsmith Ltd., Bristol.

Talent, N. & Dickinson, T. A. 2007. Apomixis and hybridization in Rosaceae subtribe Pyrinae Dumort.: a new tool promises new insights. In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 301-316. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Venkatasubban, K. R. 1945. Cytological studies in Bignoniaceae. IV The cytology of *Dolichandrone rheedii* Seem. and allied genera. **Proccedings of the Indian Academical Science** B 21: 77-92.

Vieira, M. F., Meira, R. M. S. A., Queiroz, L. P. & Meira Neto, J. A. A. 1992. Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) DC. (Bignoniaceae) em área de Cerrado do Sudeste Brasileiro. **Anais do 8º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo**: 13-19.

Whitton, J., Sears, C. J., Baack, E. J. & Otto, S. 2008. The dynamic nature of apomixis in the Angiosperms. **International Journal of Plant Sciences** 169: 169-182.

Ynagizawa, Y. A. N. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five Melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50: 1043-1050.

A detecção de plântulas triplóides dentre as demais tetraplóides nas sementes poliembriônicas do cruzamento entre *H. ochraceus* (como doadora de pólen) e *H. chrysotrichus* (planta polinizada) confirma a manutenção da reprodução sexuada em *H. chrysotrichus* concomitante à ocorrência de apomixia esporofítica (Souza *et al.* 2005, Bittencourt Júnior, dados não publicados), como já postulado para outras populações de *H. ochraceus* (Costa *et al.* 2004). A apomixia facultativa, presença de apomixia e reprodução sexuada na mesma planta e até mesmo na mesma semente, é uma constante para espécies com apomixia esporofítica (Whitton *et al.* 2008, Richards 2003, Talent & Dickinson 2007, Hörandl & Paun 2007). Esse fato indica que embriões sexuados provindos de autopolinizações e polinizações cruzadas coexistem com embriões clonais nas sementes poliembriônicas de *H. chrysotrichus* como em outras angiospermas (Koltunow *et al.* 1996, Batygina 1999a e b, Costa *et al.* 2004). Entretanto, em algumas espécies, como *Eriotheca pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott & Endl. (Malvaceae), apenas os embriões clonais parecem chegar à maturidade (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), o que também foi evidenciado pela diminuição da presença de embriões zigóticos com o aumento da frequência de poliembrionia em *Citrus* L. (Rutaceae) (Soares Filho *et al.* 2000). A predominância de embriões clonais em *E. pubescens* parece ocorrer devido à competição desses com o embrião zigótico (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), e justificaria um menor polimorfismo gênico encontrado em uma população apomítica dessa espécie (Martins & Oliveira 2003).

Embora os embriões triplóides oriundos de cruzamentos entre plantas diplóides e tetraplóides entre *H. ochraceus* e *H. chrysotrichus* sejam viáveis, não se sabe se eles seriam capazes de originar plantas adultas férteis. Os embriões triplóides podem ser inviáveis e não serem capazes de concluir o seu desenvolvimento em espécies de *Citrus* (Oiyama & Kobayashi 1990), ou podem dar origem a plantas triplóides adultas que têm dificuldade em se reproduzir sexuadamente na natureza em outras espécies de angiospermas (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Hörandl & Paun 2007). Por outro lado, as plantas triplóides que sejam autocompatíveis ou apomíticas têm uma maior probabilidade de se estabelecerem e podem produzir gametas haplóides e diplóides, que quando cruzados com a mesma planta ou com outros citótipos presentes na população podem funcionar como uma ponte para a formação de novas linhagens diplóides, triplóides ou tetraplóides (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Daurelio *et al.* 2004, Talent & Dickinson 2007).

A ampla distribuição dos complexos agâmicos poliplóides, quando comparados às espécies sexuais filogeneticamente próximas em *Handroanthus* (Gentry 1992), segue o

padrão geral para as plantas apomíticas (Richards 1986, Mogie 1992, Bayer & Chandler 2007, Whitton *et al.* 2008). A elevada heterozigozidade dos apomíticos devido a sua origem híbrida (Allem 2004, Hörandl & Paun 2007) e a heterogeneidade genética na semente que ocorre devido à coexistência de embriões clonais e sexuados (Batygina 1999a e b), são características consideradas vantajosas para as populações de plantas apomíticas e podem auxiliar na ampla distribuição dos complexos agâmicos poliplóides (Richards 1986, Mogie 1992). O desenvolvimento de frutos por autopolinização em *H. chrysotrichus* e *H. serratifolius*, bem como já verificado para populações apomíticas e poliplóides de *H. ochraceus* (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), evidencia que os apomíticos poliplóides possam ser bons colonizadores na ausência de indivíduos próximos que sejam intercruzáveis, tornando-os mais amplamente dispersos que os parentais diplóides autoincompatíveis (Asker & Jerling 1992, Mogie *et al.* 2007).

A menor produção de sementes em hibridações que em autopolinizações em *H. chrysotrichus* pode ocorrer devido a incompatibilidades genômicas que impeçam ou atrapalhem o desenvolvimento do endosperma, visto que se ele estiver presente os embriões adventícios poderiam se desenvolver normalmente em *H. chrysotrichus* (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). O balanço gênico tradicional do endosperma, de duas cargas gênicas maternas para uma carga gênica paterna (2M:1P), para plantas com saco embrionário do tipo *Polygonum* e dupla fecundação (Talent & Dickinson 2007), parece ter sido importante à diversificação inicial das angiospermas, pois essa maior proporção de genoma materno evitaria a rejeição do endosperma e do embrião (Friedman *et al.* 2008). O balanço gênico do endosperma nas hibridações entre *H. ochraceus* e *H. chrysotrichus* difere dependendo de quem é a planta doadora de pólen e quem é a planta polinizada. Quando *H. chrysotrichus* é a planta polinizada, o balanço gênico do endosperma é de 4M:1P, e quando *H. ochraceus* é a planta polinizada é de 2M:2P. O balanço gênico de 4M:1P foi encontrado no complexo *Crataegus* L. (Rosaceae), mas não se sabe se as sementes são viáveis (Talent & Dickinson 2007).

A maior porcentagem de sementes com embrião encontradas em *H. chrysotrichus* quando comparada a *H. ochraceus*, pode ser justificada devido à possibilidade de formação dos embriões adventícios quando o embrião zigótico não puder se desenvolver na primeira espécie (Costa *et al.* 2004, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). A menor porcentagem de sementes com embrião em *H. ochraceus* tanto em hibridações como em polinizações naturais, indica que a viabilidade do embrião zigótico em cruzamentos

interespecíficos pode ser a mesma daqueles formados em cruzamentos intraespecíficos, o que pode ocorrer devido à presença de muitos indivíduos aparentados na população autoincompatível de *H. ochraceus*.

No caso dos cruzamentos entre *H. ochraceus* e *H. serratifolius* teríamos os seguintes balanços gênicos para o endosperma, 6M:1P quando *H. ochraceus* for planta doadora de pólen, e 2M:3P quando *H. serratifolius* for planta doadora de pólen. Entretanto, o fruto formado no último caso, quando *H. serratifolius* foi a planta doadora de pólen, apresentou sementes com plântulas de 2n=60, indicando que os gametas de *H. serratifolius* teriam 2n=40 como os de *H. chrysotrichus*, e não 2n=60 como esperado, levando à produção de um endosperma com balanço gênico 2M:2P ao invés de 2M:3P. A presença de gametas tetraplóides em *H. serratifolius* só pode ser explicada pela presença de erros meióticos nas anteras desta espécie ou por alguma contaminação com o pólen de *H. chrysotrichus* durante o experimento.

Embora a interfertilidade entre populações diplóides de *Handroanthus ochraceus* e tetraplóides de *H. chrysotrichus* tenha ocorrido, o mesmo não foi observado entre os indivíduos diplóides de *H. ochraceus* e hexaplóides de *H. serratifolius* e entre os tetraplóides de *H. chrysotrichus* e os hexaplóides de *H. serratifolius*. Estas barreiras podem ser barreiras de ploidia, na medida em que existem diferenças marcantes entre estas espécies (Hörandl & Paun 2007). Embora a possibilidade de fluxo gênico entre citótipos possa levar a uma maior variabilidade genética, o isolamento reprodutivo verificado entre estas espécies possibilita a coexistência de citótipos diplóides e poliplóides e a formação de novas espécies (Stebbins 1971, Petit *et al.* 1999, Levin 2002, Mogie *et al.* 2007).

A presença de complexos agâmicos poliplóides em *Handroanthus*, nos quais a reprodução via apomixia e via reprodução sexuada através de autopolinizações e polinizações cruzadas intra e interespecíficas possam ocorrer, favorecem a adaptabilidade de suas espécies a diferentes condições ambientais. Isso ocorre devido à manutenção da variabilidade genética devido à ocorrência de reprodução sexuada (Hörandl & Paun 2007), à capacidade de colonização de novas áreas com plantas autoférteis, e à manutenção de genótipos ancestrais altamente heterozigotos via apomixia, que podem evitar a depressão endogâmica (Allem 2004). A viabilidade de plântulas triplóides entre as espécies estudadas pode ainda funcionar como uma ponte para a evolução de novas linhagens apomíticas em *Handroanthus* e o fluxo gênico entre suas espécies pode estar sendo favorecido devido à ação antrópica que frequentemente coloca as suas espécies em simpatria.

Referências Bibliográficas

Allem, A. C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long term evolutionary prospects in the angiosperms. **The Botanical Review** 69: 225-251.

Asker, S. E. & Jerling, L. 1992. **Apomixis in plants**. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Batistini, A. P., Telles, M. P. C., Bertoni, B. W., Coppede, J. da S., Môro, F. V., França, S. de C. & Pereira, A. M. S. 2009. Genetic diversity of natural populations of *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae) in the Cerrado of São Paulo State, Brazil. **Genetics and Molecular Research** 8: 52-63.

Batygina, T. B. 1999a. Genetic heterogeneity of seeds in terms of embryology. **Russian Journal of Plant Physiology** 46: 374-388.

Batygina, T. B. 1999b. Genetic heterogeneity of seeds. **Acta Biologica Cracoviensia** 41: 39-50.

Bayer, R. J. & Chandler, G. T. 2007. Evolution of polyploid agamic complexes: a case study using the *Catipes* group of *Antennaria*, including the *A. rosea* complex (Asteraceae: Gnaphalieae). In: Hörland, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 317-336. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2005. Late-acting, self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). **International Journal of Plant Sciences** 166: 493-506.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörland, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Costa, M. E.; Sampaio, D. S.; Paoli, A. A. S.; & Leite, S. C. A. L. 2004. Poliembrionia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 395-406.

Crepet, W. L. & Niklas, K. J. 2009. Darwin's second "abominable mystery": why are there so many angiosperm species? **American Journal of Botany** 96: 366–381.

Daurelio, L. D.; Espinoza, F.; Quarin, C. L. & Pessino, S. C. 2004. Genetic diversity in sexual

diploid and apomictic tetraploid populations of *Paspalum notatum* situated in sympatry or allopatry. **Plant Systematics and Evolution** 244: 189-199.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Friedman , W. E.; Madrid, E. N. & Williams, J. H. 2008. Origin of the fittest and survival of the fittest: Relating female gametophyte development to endosperm genetics. **International Journal of Plant Sciences** 169: 79-92.

Gentry, A. H. 1974a. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. **Biotropica** 6: 64-68.

Gentry, A. H. 1974b. Coevolutionary patterns in central american Bignoniaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61: 728-759.

Gentry, A. H. 1992. Bignoniaceae - Part. II. (Tribe Tecomae). **Flora Neotropica** Monog. 25(II): 1-370.

Goldenberg, R. & Shepherd, G. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. **Plant Systematics and Evolution** 211:13-29.

Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberber, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american tropical seasonal ecosystem**. Vol. 1: origin, structure, dynamics and plant use. Ulm: Reta Verlag, Germany.

Grose, S. O. & Olmestad, R. G. 2007a. Evolution of a charismatic neotropical clade: molecular phylogeny of *Tabebuia* s.l., Crescentieae, and allied genera (Bignoniaceae). **Systematic Botany** 32: 650-659.

Grose, S. O. & Olmestad, R. G. 2007b. Taxonomic revision in the polyphiletic genus *Tabebuia* s.l. (Bignoniaceae). **Systematic Botany** 32: 660-670.

Guerra, M. 1983. O uso do Giemsa em citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandeamento**. Ciência e Cultura** 35: 190-193.

Hörland, E. & Paun, O. 2007. Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials. In: Hörland, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 169-194. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Koltunow, A. M.; Hidaka, T. & Robinson, S. P. 1996. Polyembryony in *Citrus*. **Plant Physiology** 110: 599-609.

Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford.

Lorenzi, H. 2000. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, Nova Odessa.

Martins, R. L. & Oliveira, P. E. 2003. RAPD evidence for apomixis and clonal populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). **Plant Biology** 5: 338-340.

Mendes-Rodrigues, C.; Carmo-Oliveira, R.; Talavera, S.; Arista, M.; Ortiz, P. L. & Oliveira, P. E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombocoideae). **Plant Biology** 7: 533-540.

Mogie, M. 1992. **The evolution of asexual reproduction in plants**. Chapman & Hall, London.

Mogie, M.; Britton, N. F. & Stewart-Cox, J. A. 2007. Asexuality, polyploidy and the male function. In: Hörland, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 195-214. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Nogler, G. A. 1984. Gametophytic apomixis. In: Johri, B. M. (ed.). p. 475-518. **Embryology of Angiosperms**, Springer-Verlag, Berlin.

Oiyama, I. & Kobayashi, S. 1990. Polyembryony in undeveloped monoembryonic diploid seeds crossed with a *Citrus* tetraploid. **Science** 25: 1276-1277.

Ortolani, F. A. 2007. Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipês (Bignoniaceae). **Tese de Doutorado**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, SP.

Petit, C., Bretagnolle, F. & Fleber, F. 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. **Trends in Ecology and Evolution** 14:1-6.

Piazzano, M. 1998. Números cromosómicos en Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** 26: 179-189.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 29: 467-501.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 33: 589-639.

Ribeiro, S. P. 1998. The role of herbivory in *Tabebuia* spp. life history and evolution. **Phd Thesis**, University of London, London.

Ribeiro Júnior, J. I. 2001. **Análises estatísticas no SAEG**. Universidade Federal de Viçosa,

Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

Richards, A. J. 1986. **Plant Breeding Systems**. George Allen & Unwin, London.

Richards, A. J. 2003 Apomixis in flowering plants: an overview. **Philosophical Transactions of the Royal Society-Biological Sciences** 358:1085-1093.

Riseberg, L. H. 1995. The role of hybridization in evolution: old wine in new skins. **American Journal of Botany** 82: 944-953.

Salomão, A. N. & Allem, A. C. 2001. Polyembryony in angiosperm trees of the brazilian cerrado and caatinga vegetation. **Acta Botânica Brasilica** 15: 369-378.

Savidan, Y. 2007. Apomixis in higher plants. In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 15-22. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Soares Filho, W. S.; Moreira, C. S.; Cunha, M. A. P.; Cunha Sobrinho, A. P. & Passos, O. S. 2000. Poliembrionia e freqüência de híbridos em *Citrus* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 35: 857-864.

Soltis, D. E., Albert, V. A., Leebens-Mack, J., Bell, C. D., Paterson, A. H., Zheng, C., Sankoff, D., Pamphilis, C. W., Kerr Wall, P. & Soltis, P. S. 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. **American Journal of Botany** 96: 336-348.

Souza, L. A.; Iwazaki, M. C. & Moscheta, I. S. 2005. Morphology of pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC) Stand. (Bignoniaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 48: 407-418.

SPSS. 2000. **Systat version 10. SPSS Inc.**, San Francisco, Califórnia.

Stebbins, G. L. 1971. **Chromosomal Evolution in Higher Plants**. J. W. Arrowsmith Ltd., Bristol.

Talent, N. & Dickinson, T. A. 2007. Apomixis and hybridization in Rosaceae subtribe Pyrinae Dumort.: a new tool promises new insights. In: Hörland, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 301-316. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Whitton, J.; Sears, C. J.; Baack, E. J. & Otto, S. 2008. The dynamic nature of apomixis in the Angiosperms. **International Journal of Plant Sciences** 169: 169-182.

APOMIXIA E POLIEMBRIONIA EM ESPÉCIES POLIPLÓIDES DE *ANEMOPAEGMA* (BIGNONIACEAE) TÍPICAS DO CERRADO

Resumo

As Bignoniaceae são predominantemente autoincompatíveis, entretanto, já foram relatadas espécies autoférteis e apomíticas. Embora a autofertilidade tenha sido verificada em espécies diplóides, a poliploidia parece estar relacionada à autofertilidade e apomixia na família. Espécies subarbustivas de *Anemopaegma* ocorrentes no Cerrado já foram relatadas como autoférteis e poliplóides, podendo também ser apomíticas devido à ocorrência de poliembrionia. Este trabalho teve como objetivo verificar a origem da poliembrionia *Anemopaegma acutifolium*, e confirmar a relação da apomixia esporofítica com a poliploidia e com a autofertilidade. A presença de poliembrionia também foi verificada em populações poliplóides de *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*. O sistema reprodutivo em uma população tetraplóide de *A. acutifolium* foi estudado. Para se comparar o desenvolvimento de óvulos em pistilos de autopolinizações e polinizações cruzadas, além de determinar a origem dos embriões supranumerários no interior da semente, foram coletados pistilos dessa população para a análise histológica de 24 a 120 horas após as diferentes polinizações experimentais. Para verificar a presença de poliembrionia em diferentes espécies e populações, sementes maduras foram fixadas em etanol 70% e dissecadas sob microscópio estereoscópico. Nossos resultados confirmaram a presença de apomixia esporofítica como desencadeadora de poliembrionia em *A. acutifolium* como foi verificado para espécies de *Handroanthus*. Em ambos os gêneros a apomixia esporofítica foi verificada em populações poliplóides, mostrando um padrão semelhante ao observado para a apomixia gametofítica. A poliploidia parece quebrar o sistema de autoincompatibilidade de ação tardia em *A. acutifolium*, como deve ocorrer para as demais espécies autoférteis do gênero, podendo gerar vantagens em relação aos seus parentais diplóides e autoincompatíveis. Poliploidia e poliembrionia estão presentes em todas as populações de *A. acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum* analisadas até o momento, evidenciando a ampla distribuição da apomixia esporofítica e da poliploidia nestas espécies, as quais podem fazer parte de complexos agâmicos poliplóides.

Palavras-chave: apomixia esporofítica, autofertilidade, quebra do sistema de autoincompatibilidade de ação tardia, subarbustos.

Introdução

O sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) mostra-se predominante dentre as espécies de Bignoniaceae (Gibbs 1990, Amaral 1992, Gibbs & Bianchi 1999, Bittencourt Júnior 2003, Santos 2008, Capítulos 1, 4, 5, 6), embora algumas variações tenham sido relatadas para a família (Capítulo1). A apomixia esporofítica associada a processos de poliploidização tem sido descrita para espécies de *Handroanthus* Mattos (Piazzano 1998, Costa *et al.* 2004, Souza *et al.* 2005, Capítulo 1, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) e também parece ocorrer em espécies do complexo Anemopaegma arvense do gênero *Anemopaegma* Mart. ex Meisn. (Firetti 2009, Capítulo 1). Ao que tudo indica a ocorrência de apomixia e poliploidia podem levar à autofertilidade nas espécies com parentais diplóides e autoincompatíveis (Hörandl & Paun 2007, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados).

A apomixia esporofítica geralmente resulta na produção de sementes poliembriônicas, nas quais estão presentes embriões adventícios que se originam em tecidos somáticos do óvulo. Os embriões adventícios também podem ocorrer concomitantemente ao embrião zigótico numa mesma semente, visto que o processo sexual não parece ser alterado por este tipo de apomixia (Maheshwari 1950, Lakshmanan & Ambegaokar 1984, Asker & Jerling 1992, Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003, Capítulo 2). Elevada frequência de sementes poliembriônicas ainda pode ser um indicativo de apomixia esporofítica, como verificado para espécies de Rutaceae (Koltunow 1993, Koltunow *et al.* 1995, 1996), Malvaceae (Baker 1960, Duncan 1970, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) e Bignoniaceae (Costa *et al.* 2004, Capítulo 1, C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), e pode ser o caso das espécies poliembriônicas de *Anemopaegma* (Firetti 2009, Capítulo 1).

Ao contrario da diplosporia, tipo de apomixia gametofítica que comumente apresenta o desenvolvimento autônomo do embrião e do endosperma, a apomixia esporofítica ocorre predominantemente em espécies pseudogâmicas, ou seja, dependentes de polinização para a formação do endosperma e consequente manutenção dos embriões adventícios e formação das sementes (Lakshmanan & Ambegaokar 1984, Asker & Jerling 1992, Koltunow 1993, Koltunow & Grossniklaus 2003). A produção de um megagametófito reduzido e a presença da pseudogamia em apomíticos esporofíticos são fatores que permitem a manutenção da reprodução sexuada nestas plantas (Koltunow 1993, Batygina 1999a e b, Koltunow & Grossniklaus 2003). Com a presença de pseudogamia e apomixia esporofítica, grupos

tipicamente autoincompatíveis, como as espécies de Bignoniaceae e Malvaceae, parecem tornar-se capazes de desenvolver frutos a partir de autopolinizações (Oliveira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Firetti 2009, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). No caso da família Bignoniaceae, onde a maioria das espécies apresenta LSI, o qual permite a formação do zigoto e o desenvolvimento inicial do endosperma antes do aborto dos pistilos autopolinizados (Gibbs & Bianchi 1993, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006), podem ocorrer as condições ideais para que os embriões adventícios se desenvolvam e impeçam o aborto destes pistilos, tornando a planta autofértil (Oliveira *et al.* 1992, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados).

Embora apenas a apomixia gametofítica tenha sido relacionada com a neopoliploidia em ambientes temperados (Richards 1986, 2003, Asker & Jerling 1992, Ramsey & Schemske 2002, Whitton *et al.* 2008), as famílias Melastomataceae, Malvaceae e Bignoniaceae, que apresentam apomixia esporofítica, também parecem ter este fenômeno associado à neopoliploidia (Oliveira *et al.* 1992, Goldenberg & Shepherd 1998, Piazzano 1998, Capítulo 1). Alguns trabalhos sugerem que a poliploidia seria capaz de gerar a quebra do sistema de autoincompatibilidade, pois o grão de pólen seria incapaz de expressar o fenótipo que provoca sua rejeição no pistilo (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002, Pannell *et al.* 2004, Barringer 2007). No caso dos alopoliplóides, os quais se poliploidizam após o fluxo gênico entre duas espécies distintas, o maior número de alelos envolvido e a elevada heterozigozidade associada a sua origem podem garantir uma menor frequência de depressão endogâmica nas espécies ou citótipos autoférteis (Barringer 2007, Husband *et al.* 2008). Dessa forma, espécies pseudogâmicas com apomixia esporofítica e poliploidia podem ter dois fatores atuando em conjunto que culminem na autofertilidade.

Embora linhagens apomíticas possam restringir a geração de variabilidade genética por disseminarem indivíduos clonais (Richards 1986, 2003, Asker & Jerling 1992, Whitton *et al.* 2008), plantas poliplóides e apomíticas tendem a apresentar vantagens no processo de colonização de novos habitats e a serem mais bem dispersas que seus parentais diplóides (Asker & Jerling 1992, Goldenberg & Shepherd 1998, Barringer 2007, Husband *et al.* 2008, C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados). Estudos recentes têm mostrado que a apomixia pode manter a heterozigozidade (Allem 2004, Hörandl & Paun 2007), e que sua associação ao processo de reprodução sexuada poderia, inclusive, aumentar a variabilidade genética na população (Richards 1986, Batygina 1999a e b, Batygina & Vinogradova 2007, Hörandl & Paun 2007, Capítulo 2). A autofertilidade associada à alopoliploidia e à apomixia garantiria a colonização de novos habitats sem o prejuízo causado pela depressão endogâmica (Barringer

2007, Husband *et al.* 2008). O conhecimento de tais características reprodutivas torna-se fundamental para a conservação e manejo dessas espécies, principalmente aquelas de grande importância ecológica e potencial econômico, como é o caso dos ipês (*Tabebuia* Gomes ex A. P. de Candolle, *Handroanthus*, *Roseodendron* Miranda) e da catuaba (*Anemopaegma*) (Ferreira 1973, Gentry 1974, 1992a e b) na família Bignoniaceae.

Em Bignoniaceae as espécies apomíticas e poliplóides de *Handroanthus* (Piazzano 1998, Costa *et al.* 2004, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) fazem parte de complexos agâmicos poliplóides (Capítulos 1 e 2). Dentro destes complexos agâmicos podem ocorrer hibridações (Bittencourt Júnior 2003, Capítulo 2) que ajudam a formar e manter tais complexos (Nogler 1984, Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2007). Cruzamentos interespecíficos manuais entre espécies tetraplóides de *Anemopaegma* também produziram frutos com sementes viáveis (Firetti 2009), e registros de poliembrionia tornam-se cada vez mais frequentes entre populações e espécies do gênero (Correia *et al.* 2005a, Firetti 2009, Capítulo 1). Bem como observado para *Handroanthus* (Bittencourt Júnior & Semir 2005, Capítulo 2, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), as espécies poliplóides e poliembriônicas de *Anemopaegma* investigadas quanto ao seu sistema reprodutivo são autoférteis (Firetti 2009). Por outro lado, as espécies diplóides correlatas às poliplóides e apomíticas (Goldblatt & Gentry 1979, Firetti 2009, ver Capítulo Introdutório) são autoincompatíveis (Correia *et al.* 2006, Carvalho *et al.* 2007), como relatado para os parentais sexuados de outros complexos agâmicos poliplóides (Asker & Jerling 1992, Hörandl & Paun 2007).

Os registros de espécies poliembriônicas e poliplóides de *Anemopaegma* se concentram em espécies subarbustivas do Cerrado (Firetti 2009, Capítulo 1), como sugerido por Morawetz (1986), as quais provavelmente evoluíram a partir de lianas comuns em ambientes florestais (Lohmann 2006). A forma de vida subarbustiva proporciona a presença de um sistema subterrâneo muito desenvolvido que pode, juntamente à embrionia adventícia e à autofertilidade, gerar grande habilidade em colonizar novas áreas e manter os híbridos e poliplóides no ambiente (Stebbins 1971, Asker & Jerling 1992, Levin 2002, Barringer 2007, Husband *et al.* 2008, C. Mendes-Rodrigues dados não publicados).

Este trabalho teve como objetivo verificar a origem da poliembrionia em *Anemopaegma acutifolium* DC., confirmando a presença de apomixia esporofítica, bem como sua relação com a autofertilidade e com a poliploidia, como foi demonstrado para *Handroanthus*. Para termos uma ideia da extensão desse caráter, a presença de elevada frequência de sementes poliembriônicas foi verificada como um indicativo de apomixia

esporofítica em populações poliplóides (Capítulo 1) de três espécies de *Anemopaegma*.

Material e Métodos

Espécies estudadas e áreas de estudo - As três espécies estudadas, *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza, e *A. glaucum* Mart. ex DC, são subarbustos (Figuras 1A, C) com sistemas subterrâneos bem desenvolvidos que permitem o rebrotamento após as estações mais secas ou injúrias causadas pelo fogo, herbivoria ou pelo manejo dos seres humanos (Ferreira 1973, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006). O cálice é verde, persistente, e a corola possui os lobos brancos e o tubo amarelado (Figuras 1B, D, E). O fruto é uma cápsula septicida com estipe (Figura 1E) que pode demorar cerca de um ano para atingir a maturidade, a qual também pode ser promovida pela ação do fogo. As sementes possuem alas em torno de todo o corpo e são dispersas pelo vento (Figura 1F). *Anemopaegma acutifolium* diferencia-se das demais espécies por apresentar folíolos verdes brilhantes, peciolados, estreito-elípticos e com ápices agudos (Figura 1A) *Anemopaegma arvense* var. *arvense* apresenta folíolos sésseis, estreitos e lineares. *Anemopaegma arvense* var. *petiolata* apresenta folíolos curto-peciolados, estreitos e lineares. *Anemopaegma arvense* var. *puberula* apresenta folíolos sésseis, estreitos e lineares como os de *A. arvense* var. *arvense*, porém a planta tem um porte menor e é pubescente, com tricomas tectores nas folhas, cálices e frutos (Figura 1B). *Anemopaegma glaucum* apresenta folíolos verdes opacos, esbranquiçados, peciolados, variando de oblanceolados a obovados, e apresenta o porte um pouco maior que as demais espécies (Figuras 1C, D).

Este estudo foi conduzido nos anos de 2006, 2007 e 2008 em diferentes áreas de Cerrado nos estados de Goiás, Minas Gerais e São Paulo. As polinizações experimentais e análises histológicas dos eventos pós-polinização foram realizadas com as plantas da população de *A. acutifolium*, no Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU) (18°58’48.5”S 48°17’45.8”W), Uberlândia, MG. A presença e frequência de poliembrionia foram investigadas em diferentes populações poliplóides (Capítulo 1) de *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, cujas localizações constam na Tabela 5. Foram analisadas quatro populações de *A. acutifolium* e sete populações de *A. arvense* subdivididas em três subespécies: *Anemopaegma arvense* var. *arvense*, *A. arvense* var. *petiolata* e *A. arvense* var. *puberula*. Foi analisada uma população de *A. glaucum*, na qual também foi realizada a comparação da frequência de poliembrionia entre os indivíduos. O material testemunho foi depositado no *Herbarium Uberlandense*-HUFU, Uberlândia, MG (ver números de registro na

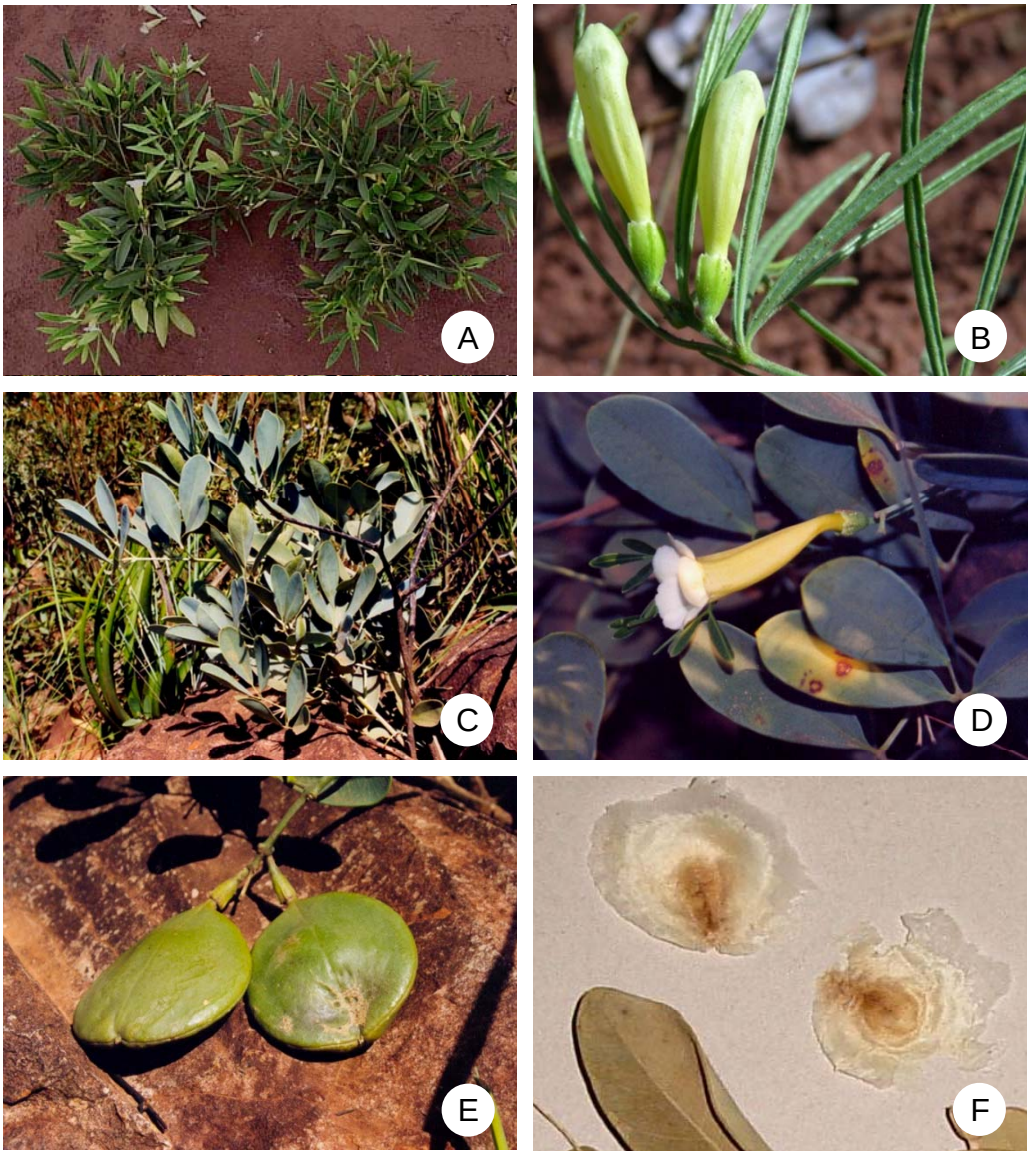

Figura 1. A. *A. acutifolium* no CCPIU, Uberlândia, MG. Subarbusto em flor. B. *A. arvense* var. *puberula* na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG. Folíolos e botões florais. C-F. *A. glaucum* nas margens da MG 10, Km 103, Serra do Cipó, Santana do Riacho, MG. C. Subarbusto crescendo em meio às rochas. D. Flor. E. Frutos em desenvolvimento com cálice persistente. F. Sementes aladas. Foto A: Marcelo Pace.

Tabela 5). A identificação do material Botânico foi gentilmente confirmada pelos especialistas Dra. L. G. Lohmann, Dra. F. Firetti e Dr. D. J. Coral.

Experimentos de polinizações controladas - Para o estudo do sistema reprodutivo de *A. acutifolium*, foram realizadas polinizações experimentais em 17 indivíduos de junho a setembro de 2006 (estação reprodutiva 1) e em 5 indivíduos de fevereiro a abril de 2007 (estação reprodutiva 2). As inflorescências contendo apenas botões florais foram ensacadas com sacos de organza para excluir os potenciais polinizadores. Posteriormente, foram realizadas autopolinizações e polinizações cruzadas manuais em flores de primeiro dia emasculadas antes da polinização. Em autopolinizações utilizou-se o pólen da mesma flor polinizada e em polinizações cruzadas utilizou-se o pólen de indivíduos distantes, pelo menos 10m, dos indivíduos polinizados. Alguns botões ensacados foram apenas marcados para checar a ocorrência de autopolinização espontânea e outros foram emasculados antes de serem reensacados. A produção natural de frutos foi monitorada através de botões marcados, mas não ensacados. Os frutos que chegaram à maturidade foram coletados para a quantificação do número de sementes por fruto e do número de embriões por semente.

Análises histológicas - As análises histológicas dos óvulos e sementes jovens foram realizadas para comparar os eventos pós-polinização em pistilos de autopolinizações e polinizações cruzadas em *A. acutifolium*, além de permitirem detectar a origem dos embriões supranumerários presentes nas sementes maduras desta espécie. De dois a sete pistilos foram coletados em diferentes intervalos após autopolinizações e polinizações cruzadas manuais (24, 48, 72, 96 e 120h após a polinização), totalizando 45 pistilos coletados para as análises histológicas (ver Tabela 2). Além desses, cinco pistilos não polinizados provenientes de flores emasculadas foram coletados 120h após a abertura da flor. Os pistilos polinizados e não polinizados foram fixados em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump 1976) em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2. Os ovários desses pistilos tiveram a altura e a largura medidas com paquímetro digital Digimess e, posteriormente, tiveram suas paredes retiradas com auxílio de pinças de ponta fina e estiletes sob microscópio estereoscópico Olympus SZX12, o que possibilitou a contagem dos óvulos. Para avaliar estágios mais adiantados do desenvolvimento dos embriões e do endosperma, foram coletados frutos com mais de 5,0cm de comprimento, nos quais as sementes já possuíam dimensões e forma de sementes maduras, mas embriões e endosperma ainda pouco desenvolvidos. Estes frutos foram fixados em FAA50 (Johansen 1940) ou em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump 1976) em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 para análises histológicas.

Os óvulos presos às placentas ou as sementes dissecadas foram desidratados em série etílica e passaram por uma série de etanol:clorofórmio (3:1, 1:1, 3:1) para retirada de cera epicuticular. A inclusão foi realizada em hidroxietilmetacrilato (Leica Historesin Embedding Kit) (Gerrits & Smid 1983) e os cortes seriados, de 2 a 4 μm de espessura, obtidos em micrótomo de rotação equipado com navalha de vidro Leica de 8mm. O material foi corado com Azul de Toluidina O 0,05%, em tampão benzoato, pH 4,4 (Feder & O'Brien 1968) e as lâminas montadas com Permount®. As observações de rotina e as fotomicrografias foram realizadas em microscópio óptico Olympus BX51 equipado com câmera digital Olympus DP70.

Quantificação do número de embriões por semente - As sementes maduras coletadas de diferentes frutos e indivíduos por população foram fixadas e estocadas em FAA70 ou etanol 70%, e dissecadas com auxílio de pinças e bisturis sob microscópio estereoscópico Olympus SZX12 a fim de verificar o número mais preciso possível de embriões por semente. Foram estabelecidas diferentes classes embriônicas para as sementes, as quais foram definidas de acordo número de embriões por semente. Na população de *A. glaucum*, sementes de 15 indivíduos foram analisadas separadamente para verificar possíveis diferenças nas frequências de poliembrionia entre indivíduos. Na população de *A. acutifolium* do CCPIU, Uberlândia, MG, frutos provindos de polinizações naturais e de polinizações controladas também foram analisados quanto à frequência de poliembrionia.

Análises estatísticas - A análise ANOVA de um fator foi utilizada após a normalidade ter sido verificada para os dados (Lilliefors Probability $p>0,05$), e os testes de Mann-Whitney e Kruskal Wallis após teste negativo para normalidade dos dados (Lilliefors Probability $p<0,05$), realizados no Systat 10.0 (SPSS 2000). A normalidade não foi testada para a realização de ANOVA de dois fatores. Para comparar o número médio de sementes por fruto entre os diferentes tratamentos utilizou-se ANOVA de um fator através do Systat 10.0 (SPSS 2000). Para comparar o número de óvulos por ovário com o número de sementes por fruto em condições naturais utilizou-se o teste de Mann-Whitney também através do Systat 10.0 (SPSS 2000). Para realizar comparações da altura e largura dos ovários e dos eventos posteriores à polinização entre diferentes tratamentos e entre diferentes intervalos após a polinização utilizou-se ANOVA de dois fatores e o teste de Tukey para comparações *a posteriori* através do Sisvar (Ferreira 2000). Os eventos posteriores à polinização foram analisados separadamente, tendo sido realizada uma análise de ANOVA de dois fatores para cada estágio do desenvolvimento (ver Tabela 2). Os dados referentes aos eventos posteriores à polinização não foram transformados, sendo utilizada como unidade amostral a porcentagem de óvulos

por pistilo que foi observada em determinado estágio de desenvolvimento. Para verificar diferenças no número médio de embriões por semente entre as diferentes espécies, populações, anos, indivíduos e tratamentos utilizou-se o teste de e o teste de Dunn para comparações *a posteriori* através do programa BioEstat (Ayres *et al.* 2007).

Resultados

Sistema reprodutivo – Todos os tratamentos de polinizações controladas realizados para a população de *Anemopaegma acutifolium* do CCPIU desenvolveram frutos, exceto o de flores emasculadas (Tabela 1). Dentre os tratamentos que desenvolveram frutos, o de autopolinização espontânea apresentou a menor frutificação, de 5,1% (Tabela 1). Já a frutificação resultante de autopolinizações e polinizações cruzadas manuais e de polinizações naturais são muito semelhantes entre si, estando entre 40 e 55% (Tabela 1).

Não houve diferença na altura ou largura dos ovários entre os diferentes intervalos após a polinização (24 a 120 horas) ou após abertura da flor no caso de pistilos não polinizados, mas foi possível detectar uma maior altura dos ovários nos pistilos autopolinizados em relação aos não polinizados (teste de Tukey, $p<0,05$) (Altura - tratamentos: $F_{2,59}=6,032$, $p=0,004$; intervalos após a polinização: $F_{4,59}=1,758$, $p=0,149$; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{8,59}=1,545$, $p=0,161$; Largura - tratamentos: $F_{2,59}=0,979$, $p=0,382$; intervalos após a polinização: $F_{4,59}=1,652$, $p=0,173$; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{8,59}=1,164$, $p=0,336$). Em *A. acutifolium*, o número de sementes por fruto não diferiu entre polinizações cruzadas 19,92±4,68 (n=17), autopolinizações 21,11±4,51 (n=12) e polinizações naturais 23,00±5,31 (n=13) ($F_{2,39}=2,371$, $p=0,107$). O número médio de óvulos por ovário, de 22,58±7,71 (n=93), não diferiu do número médio de sementes por fruto formados por polinização natural ($U=580,000$, $p=0,813$), indicando que praticamente todos os óvulos podem ser convertidos em sementes.

Caracterização do óvulo - Em *A. acutifolium* os óvulos são anátropos, unitegumentados e tenuinucelados, o nucelo é representado apenas pela hipóstase e por vestígios da epiderme nucelar após a abertura da flor, tendo sido a epiderme nucelar degradada na região micropilar do óvulo (Figuras 2B, C, E, F, 3H). O endotélio reveste o megagametófito ou saco embrionário internamente na região calazal, também tendo sido degradado na região micropilar do óvulo (Figuras 2B, C, E, F). O megagametófito é do tipo *Polygonum*, apresentando as duas sinérgides intactas, sem sinais de degeneração, em pistilos não polinizados no primeiro dia de antese e mesmo nos dias posteriores (Figuras 2A, 3G).

Tabela 1: Polinizações experimentais e formação de frutos em *Anemopaegma acutifolium* na população do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, Uberlândia, MG, em duas diferentes estações reprodutivas nos anos de 2006 e 2007.

Estações reprodutivas	**Junho - Setembro 2006**		**Fevereiro - Abril 2007**			
Dias após a polinização		**32 dias**		**21 dias**	**Total Flores**	**Total Frutos (%)**
Polinizações experimentais	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**		
Autopolinização manual	26	12 (46,15%)	16	11 (68,75%)	42	23 (54,76%)
Polinização cruzada manual	31	14 (45,16%)	15	10 (66,67%)	46	24 (52,17%)
Autopolinização espontânea	24	2 (8,33%)	15	0 (0%)	39	2 (5,13%)
Flores emasculadas	28	0 (0%)	18	0 (0%)	46	0 (0%)
Polinização natural (controle)	31	15 (48,39%)	21	6 (28,57%)	52	21 (40,38%)

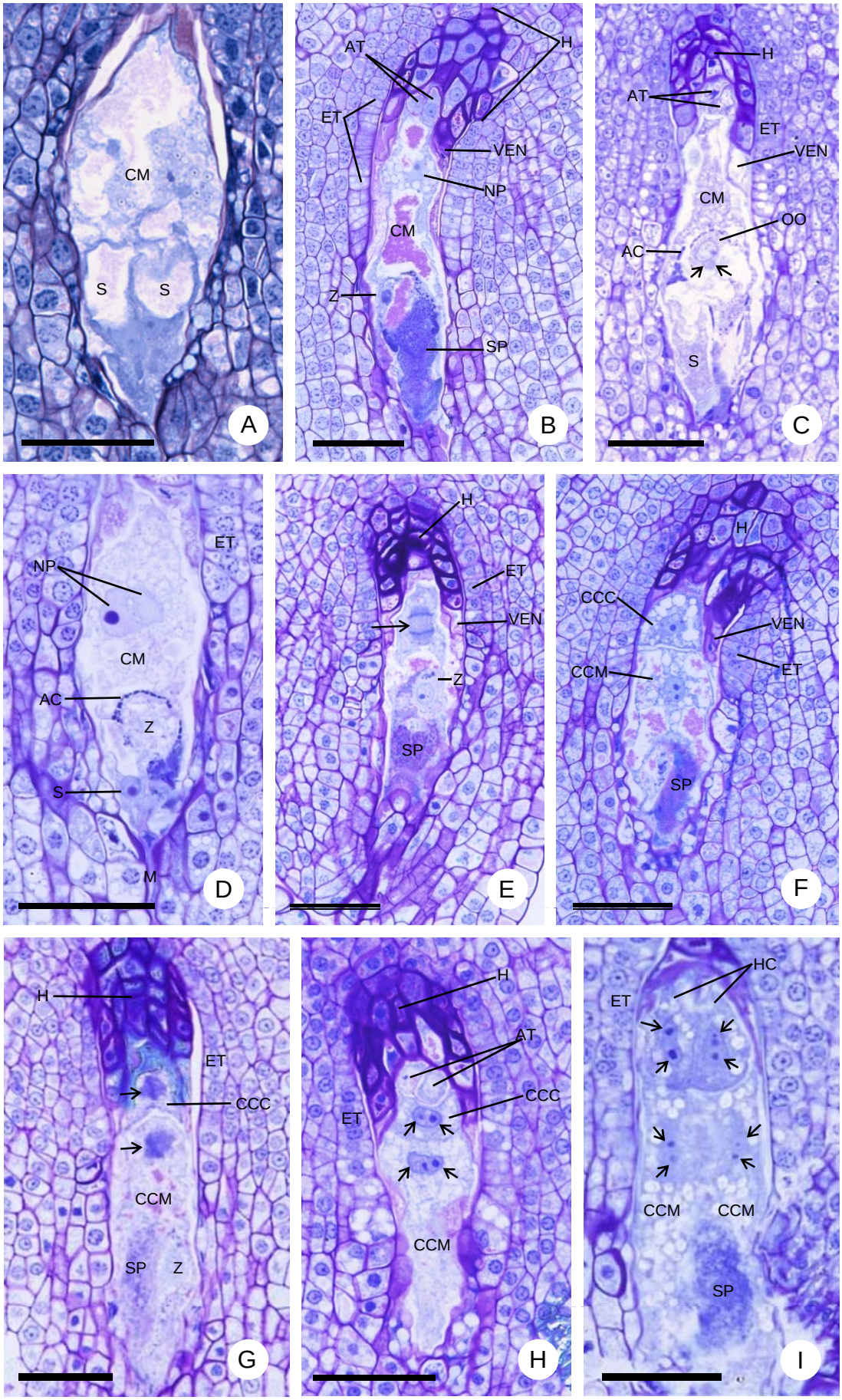
CM
S
S
A
AT
H
ET
VEN
NP
CM
Z
SP
B
H
AT
ET
VEN
CM
OO
AC
S
C
ET
NP
CM
AC
Z
S
M
D
H
ET
VEN
Z
SP
E
H
CCC
VEN
CCM
ET
SP
F
H
ET
CCC
CCM
SP
Z
G
H
AT
CCC
ET
CCM
H
HC
ET
CCM
CCM
SP
I

Figura 2. Fotomicrografias de óvulos antes e após a polinizações controladas e de sementes jovens durante o desenvolvimento inicial do endosperma em secção longitudinal em *Anemopaegma acutifolium* no CCPIU, Uberlândia, MG. A. Sinérgides não penetradas em pistilos de flores de primeiro dia não polinizadas. B. Megagametófito com sinérgide penetrada e zigoto 24h após a polinização cruzada. C. Megagametófito com sinérgide penetrada e não penetrada 24h após a autopolinização. A seta aponta possivelmente o gameta masculino no citoplasma da oosfera. D. Sinérgide não penetrada e sinérgide penetrada com alça citoplasmática 48h após a autopolinização. E-G. 72h após a autopolinização. E. A seta aponta a primeira divisão mitótica do núcleo primário do endosperma. F. Endosperma com 2 células. G. Endosperma com 2 células e núcleos em cariocinese (setas). H-I. 48h após a autopolinização. H. Endosperma com 2 células e 4 núcleos (setas). I. Endosperma com 4 células e 8 núcleos (setas). As siglas utilizadas nas figuras serão reportadas apenas na primeira legenda em que aparecerem, de forma a não se repetirem. AC: alça citoplasmática; AT: antípodas; CCC: célula da câmara calazal do endosperma; CCM: célula da câmara micropilar do endosperma; CM: célula média; ET: endotélio; H: hipóstase; HC: haustório calazal do endosperma; M: micrópila; NP: núcleos polares; OO: oosfera; S: sinérgide; SP: sinérgide penetrada; VEN: vestígio de epiderme nucelar; Z: zigoto. Barras=50µm.

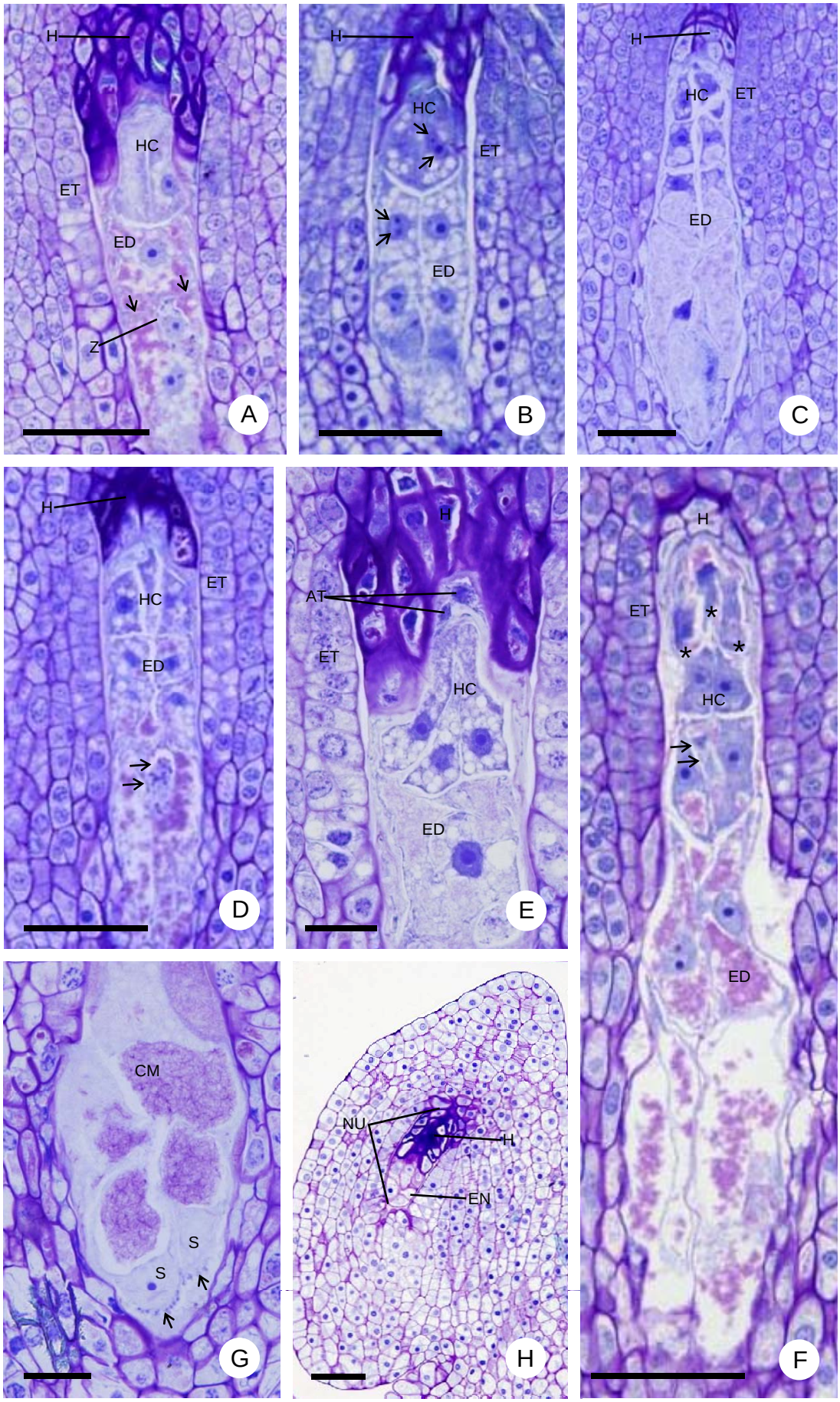
H
HC
ET
ED
Z
A
H
HC
ET
ED
B
H
HC
ET
ED
C
H
HC
ET
ED
D
H
AT
ET
HC
ED
E
H
ET
HC
ED
F
CM
S
S
G
NU
H
EN
H

Figura 3. Fotomicrografias de sementes jovens e de óvulos não penetrados em secção longitudinal em *Anemopaegma acutifolium* no CCPIU, Uberlândia, MG. A. Endosperma com 4 células 120h após a polinização cruzada. As setas apontam a parede transversal entre as duas células da câmara micropilar do endosperma. B. Endosperma com 6 células 72h após a polinização cruzada. Cada célula do endosperma com 2 núcleos (setas). C. Endosperma com 8 células 120h após a polinização cruzada. D. Endosperma com 10 células 120h após a polinização cruzada. As setas apontam o zigoto. E. Endosperma com haustório calazal de 4 células 120h após a autopolinização, embora observem-se apenas 3 células. F. Endosperma de 10 células 168h após a autopolinização. As setas apontam o zigoto. Os asteriscos apontam as células precursoras de embriões adventícios (PEA). G. Sinérgides intactas e com paredes invaginantes (setas) 120h após a abertura da flor em pistilo emasculado. H. Óvulo sem megagametófito e com aspecto degenerativo 24h após a autopolinização. ED: endosperma; EN: epiderme nucelar; NU: nucelo. Barras=50µm (A-D, F, H), 20µm (E, G) .

Eventos posteriores à polinização - Cerca de 35% dos óvulos haviam sido penetrados pelos tubos polínicos 24h após a polinização, aumentando para cerca 80% nos intervalos subsequentes (Tabela 2) e diferindo estatisticamente entre si (teste de Tukey, $p<0,05$) (tratamentos: $F_{1,35}=0,317$, $p=0,577$; intervalos após a polinização: $F_{4,35}=19,454$, $p<0,001$; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{4,35}=0,247$, $p=0,909$). Óvulos com megagametófito anômalo ou ausente não foram penetrados (Figura 3H). Após a penetração do tubo polínico no óvulo ele descarrega seu conteúdo citoplasmático em uma das sinérgides, a qual aumenta em volume e toma coloração bastante densa (Figuras 2B, D-F, I), com a subsequente formação de uma alça citoplasmática (Figuras 2B-D). A movimentação dos gametas masculinos (células generativas) e sua fusão aos núcleos da oosfera e da célula média são de difícil visualização, embora uma estrutura que possivelmente representa o núcleo de um gameta masculino tenha aparecido junto ao núcleo da oosfera em um dos cortes analisados (Figura 2C). Dessa forma, para fins de quantificação, consideram-se óvulos fecundados aqueles com a sinérgide penetrada pelo tubo polínico e com uma alça citoplasmática formada entre o pólo calazal da oosfera e a célula média (Figura 2D), a qual parece estar relacionada à transferência dos núcleos dos gametas masculinos da sinérgide penetrada para a oosfera e para a célula média (Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006). A fecundação ocorreu pouco após a penetração, sendo reduzido (0 a 5%) o número de óvulos penetrados e não fecundados (Tabela 2). Óvulos penetrados e não fecundados algumas vezes apresentaram as sinérgides com aspecto degradado, diferente daquelas penetradas pelo tubo polínico (Figuras 4A-C). Foram observadas ambas as sinérgides penetradas pelos tubos polínicos em 2,96% dos óvulos fecundados em pistilos provenientes de autopolinização e 5,71% dos óvulos fecundados em pistilos provenientes de polinizações cruzadas (Figuras 4D-F). A presença de duas sinérgides penetradas foi observada em todos os intervalos e não parece inviabilizar o desenvolvimento posterior do endosperma, tendo sido encontradas em óvulos com endosperma de até oito células.

O endosperma celular teve sua primeira divisão transversal, originando uma célula maior na câmara micropilar e outra menor na câmara calazal (Figuras 2E, F). A célula da câmara calazal se dividiu longitudinalmente, dando origem às células de conteúdo citoplasmático denso que caracterizam o haustório calazal do endosperma (Figuras 2G-I, 3A-C). Já a da câmara micropilar se dividiu tanto longitudinal quanto transversalmente (Figuras 2G-I, 3A). Nem sempre a segunda divisão nas células das câmaras micropilar e calazal foi sincrônica, dando origem a endospermas com três células (Tabela 2). Quando a célula da câmara micropilar se dividiu longitudinalmente (Figura 2I), as duas células formadas

Tabela 2: Número e porcentagem média de óvulos em diferentes estágios de desenvolvimento após a polinização, avaliando o efeito de autopolinizações manuais (Auto) e polinizações manuais cruzadas (Cruzada) em pistilos coletados 24, 48, 72, 96 e 120 horas após realizadas as polinizações experimentais em *Anemopaegma acutifolium* na população do CCPIU, Uberlândia, MG. Os números entre parênteses que seguem o tipo de polinização experimental representam o número de pistilos avaliado em cada tratamento.

Estágio	**Intervalos após a polinização**									
	24h		**48h**		**72h**		**96h**		**120h**	
	Auto (5)	**Cruzada (5)**	**Auto (6)**	**Cruzada (2)**	**Auto (4)**	**Cruzada (2)**	**Auto (5)**	**Cruzada (5)**	**Auto (4)**	**Cruzada (7)**
np	84 (61,31%)	54 (60,69%)	18 (17,54%)	14 (22,96%)	16 (14,94%)	2 (5,26%)	10 (7,10%)	18 (12,65%)	9 (12,23%)	26 (16,65%)
Σ pen	54 (33,20%)	30 (37,20%)	95 (81,63%)	47 (77,04%)	84 (85,06%)	33 (94,74%)	115 (91,13%)	116 (86,22%)	75 (86,77%)	131 (83,35%)
Σ fec	53 (32,60%)	30 (37,20%)	88 (77,60%)	47 (77,04%)	82 (83,24%)	31 (89,47%)	110 (88,13%)	111 (82,81%)	72 (83,60%)	131 (83,35%)
End 2C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	52 (41,82%)	29 (47,42%)	21 (23,75%)	3 (8,39%)	1 (0,54%)	0 (0,00%)	3 (4,66%)	1 (1,10%)
End 3C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (2,07%)	0 (0,00%)	8 (8,96%)	1 (3,13%)	3 (2,77%)	6 (4,20%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
End 4C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	10 (11,11%)	0 (0,00%)	14 (14,65%)	7 (20,39%)	17 (14,25%)	12 (10,17%)	3 (4,66%)	11 (7,73%)
End 5C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (1,19%)	0 (0,00%)	2 (1,47%)	0 (0,00%)	4 (2,97%)	2 (1,13%)	0 (0,00%)	1 (0,62%)
End 6C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	3 (3,85%)	0 (0,00%)	24 (18,01%)	14 (40,30%)	47 (40,83%)	30 (22,66%)	25 (29,88%)	26 (16,21%)
End 7C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (0,67%)	3 (3,87%)	6 (3,97%)
End 8C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (0,74%)	0 (0,00%)	11 (7,13%)	32 (23,26%)	20 (21,30%)	48 (29,23%)
End 9C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (0,67%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
End 10C	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	12 (7,27%)	6 (3,34%)	12 (12,26%)	19 (12,19%)
SSE	1 (0,67%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	3 (1,77%)	1 (0,54%)	1 (1,00%)	0 (0,00%)
SSE anôm	4 (4,81%)	2 (2,11%)	1 (0,83%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (0,59%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Total	143	86	114	61	100	35	128	136	85	157

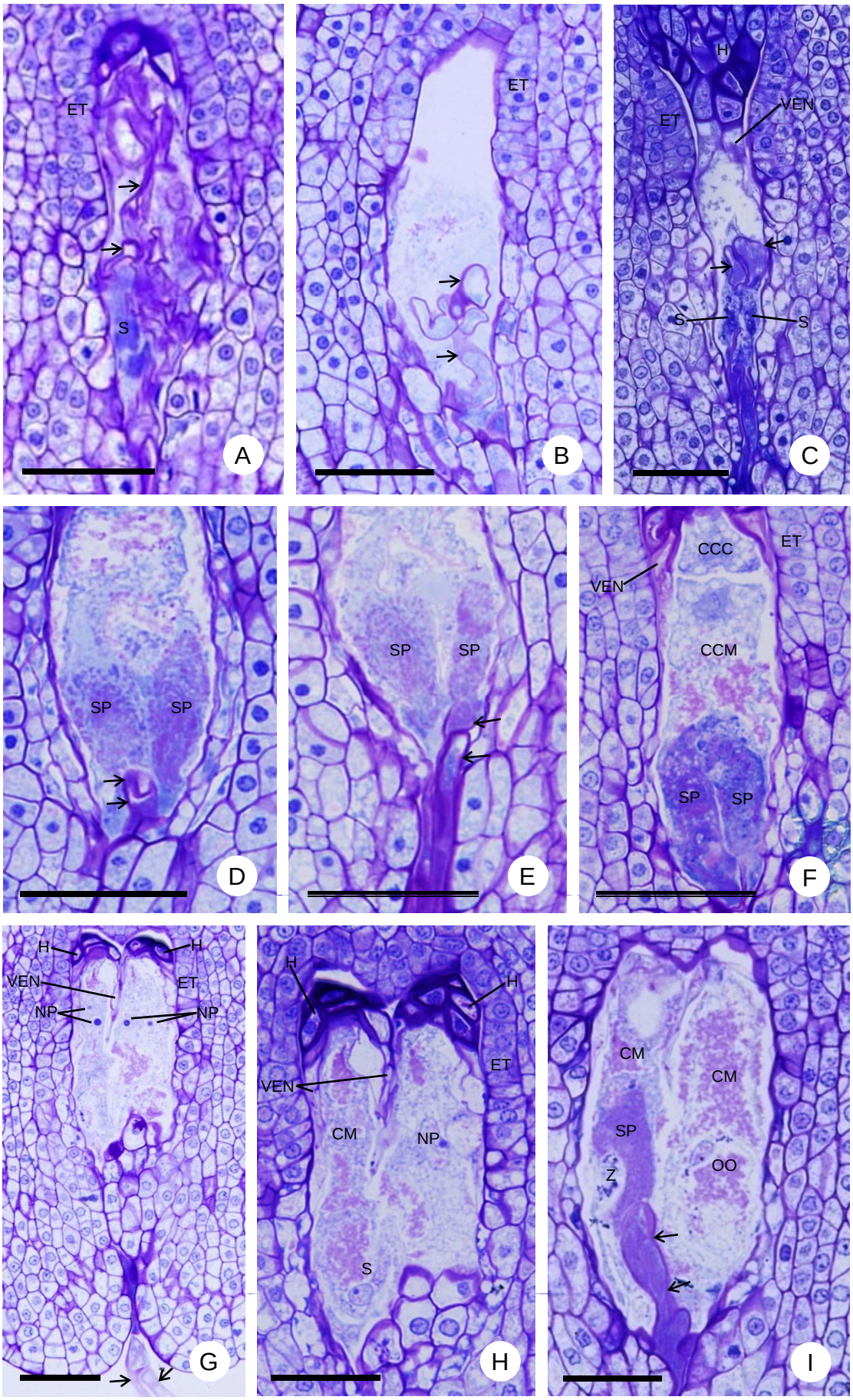
ET
S
A
ET
B
H
ET
VEN
S
S
C
SP
SP
D
SP
SP
E
CCC
ET
VEN
CCM
SP
SP
F
H
H
VEN
ET
NP
NP
G
H
H
ET
VEN
CM
NP
S
H
CM
CM
SP
OO
Z
I

Figura 4. Fotomicrografias de óvulos penetrados com algumas peculiaridades em secção longitudinal em *Anemopaegma acutifolium* no CCPIU, Uberlândia, MG. A, B. Megagametófitos penetrados por um ou mais tubos polínicos (setas) que não foram capazes de descarregar o seu conteúdo citoplasmático. A. 96h após a polinização cruzada. Observar sinérgide com aspecto degenerativo. B. 48h após a autopolinização. C. Sinérgides com aspecto degenerativo e dois tubos polínicos (setas) penetrando o megagametófito sem descarregar o conteúdo citoplasmático 96h após a polinização cruzada. D, E. As duas sinérgides foram penetradas por diferentes tubos polínicos (setas). Cortes sequenciais de um mesmo óvulo 48h após a autopolinização. D. Tubo polínico penetrando a sinérgide do lado esquerdo do corte. E. Tubo polínico penetrando a sinérgide do lado direito do corte. F. Duas sinérgides penetradas por diferentes tubos polínicos e endosperma de 2 células 48h após a autopolinização. G, H, I. Cortes sequenciais de um mesmo óvulo com dois megagametófitos 96h após a polinização cruzada. G. Dois tubos polínicos (setas) penetrando o óvulo. Núcleos polares dos dois megagametófitos aparentes. H, I. Sinérgides não penetrada (H) e penetrada (I) do megagametófito à esquerda do corte. I. As setas apontam o tubo polínico que cresceu dentro do megagametófito antes de penetrar a sinérgide. Barras=50µm.

dividiram-se transversalmente para formar um endosperma de seis células (Figura 3B). Quando ela se dividiu transversalmente (Figura 3A), um ciclo subsequente de divisões longitudinais nas duas células-filhas originou o endosperma de seis células (Figura 3B), ou quando tais divisões não foram sincrônicas, verificou-se um estágio intermediário de endosperma com cinco células. As duas células centrais do endosperma de seis células dividiram-se transversalmente para formar a maior parte das células do endosperma, que permaneceu bisseriado até pelo menos 120h após a polinização (Figuras 3B, C). Alguma assincronia entre as duas células centrais e suas derivadas ainda propiciaram o aparecimento de números ímpares das células do endosperma, embora em proporções muito menores que os números pares (Tabela 2). As células da câmara calazal do endosperma se dividiram longitudinalmente mais uma vez, formando um haustório de quatro células (Figuras 3D, E).

As análises estatísticas revelaram que apenas no estádio do endosperma de seis células houve interação entre tratamentos e intervalos de análise (tratamentos: $F_{1,35}$=0,552, p=0,462; intervalos após a polinização: $F_{4,35}$=11,284, p<0,001; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{4,35}$=2,953, p=0,033), revelando mais óvulos com seis células em polinizações cruzadas que em autopolinizações no intervalo de 72h, e a situação inversa no intervalo de 96h (teste de Tukey, p<0,05) (Tabela 2).

Origem dos embriões supranumerários em sementes poliembriônicas - Apenas um óvulo, dentre os 1045 óvulos observados, apresentou dois megagametófitos (Figuras 4G-I), não parecendo provável que esta seja a principal origem das sementes poliembriônicas. Ao invés disso, foram observadas células da hipóstase se alongando para o interior da semente, em meio ao endosperma, tanto em pistilos não polinizados 120h após a abertura da flor (Figuras 5A-C), quanto em pistilos polinizados a partir de 120h após a polinização (Figuras 3F, 5D-I). Estas células podem ser consideradas células precursoras de embriões adventícios (PEA). Em estádios mais adiantados do desenvolvimento, foram observadas duas células alongadas, semelhantes ao zigoto ou tubo pró-embriônico, com origem na região micropilar do óvulo, indicando que possam ser duas PEA ou uma PEA e um zigoto de origem sexuada (Figura 6A).

A formação de sementes poliembriônicas, com embriões de origem zigótica, de células somáticas da hipóstase, ou da região micropilar do óvulo, pode ocorrer simultaneamente numa mesma semente (Figuras 6B-G). Os embriões de origem na hipóstase ficam intimamente ligados às células diferenciadas na porção calazal do endosperma (Figura 6B). Os embriões crescem dentro de um envoltório membranáceo constituído por camadas celulares periféricas do endosperma e pelas camadas mais internas do tegumento da semente,

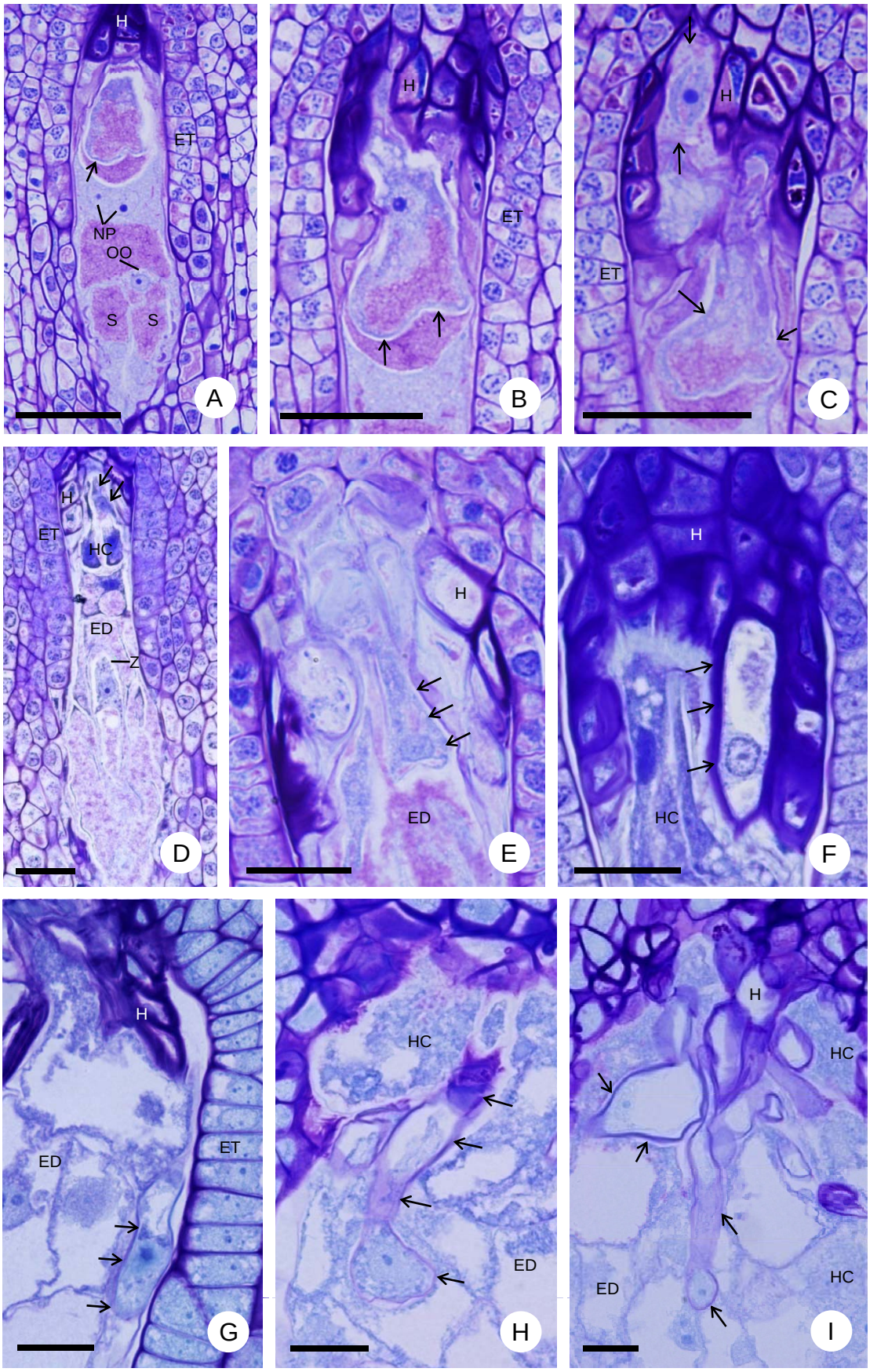
H
ET
NP
OO
S
S
A
H
ET
B
H
ET
C
H
ET
HC
ED
Z
D
H
ED
E
H
HC
F
H
ED
ET
G
HC
ED
H
H
HC
ED
HC
I

Figura 5. Fotomicrografias de óvulos não penetrados ou sementes jovens em secção longitudinal em *Anemopaegma acutifolium* no CCPIU, Uberlândia, MG. A-C. Cortes sequenciais de um mesmo óvulo 120h após a abertura da flor em pistilos não polinizados. A. Megagametógito não penetrado com célula precursora de embrião adventício (PEA) tendo origem na hipóstase. B. Detalhe da PEA. C. Outra PEA pode ser observada. D. Endosperma com 8 células, zigoto e PEA presentes no óvulo 120h após a polinização cruzada. E-I. PEAs tendo origem em células da hipóstase. E. 240h após a polinização cruzada. F. 120h após a autopolinização. G-I. Sementes de frutos em desenvolvimento coletados ao acaso. As setas apontam as PEA em todas as figuras. Barras=50µm (A-D), 20µm (E-I).

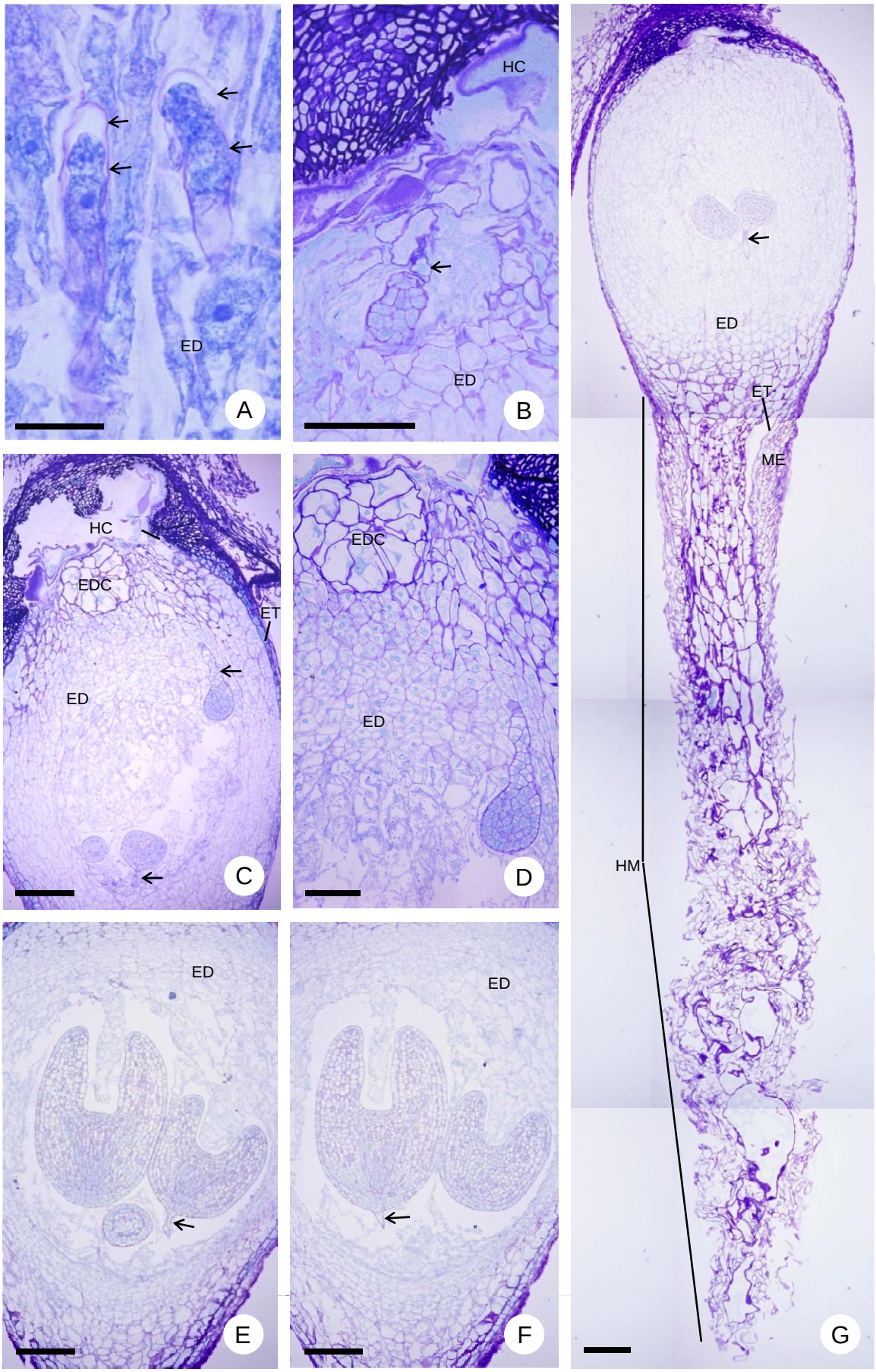
ED
A
HC
ED
B
HC
EDC
ET
ED
C
EDC
ED
D
ED
E
ED
F
ED
ET
ME
HM
G

Figura 6. Fotomicrografias de sementes jovens de frutos em desenvolvimento coletados ao acaso em secção longitudinal em *Anemopaegma acutifolium* no CCPIU, Uberlândia, MG. A. Duas células precursoras de embrião adventício (PEA) originadas na região micropilar ou um zigoto e uma PEA (setas). B-G. As setas apontam os suspensores dos embriões. B. Pró-embrião adventício ancorado nas células calazais do endosperma. C. Um pró-embrião globular adventício proveniente das células da hipóstase e dois pró-embriões globulares provenientes da região micropilar. Notar haustório calazal carente de conteúdo citoplasmático. D. Detalhe da figura anterior com pró-embrião globular adventício e as células diferenciadas na porção calazal do endosperma. E, F. Cortes sequenciais de uma mesma semente com três embriões, sendo dois embriões em fase torpedo de origem na região micropilar. G. Envoltório membranáceo dos embriões com dois embriões cordiformes de origem micropilar internamente e amplo haustório micropilar do endosperma. EDC: endosperma diferenciado na região calazal; HM: haustório micropilar do endosperma; ME: mesotesta. Barras=20µm (A), 100µm (B, D), 200µm (C, E-G).

as quais se separam do restante da mesotesta (Figuras 6G, 7A). O haustório micropilar do endosperma se diferencia tardiamente e possui células muito volumosas (Figuras 6G, 7A).

Frequência de sementes poliembriônicas e número de embriões por semente - A morfologia do conjunto envoltório membranáceo e embriões em sementes poliembriônicas maduras, geralmente difere do formato típico observado em sementes monoembriônicas (Figuras 7B, C). A retirada do envoltório membranáceo foi necessária para a exposição dos embriões (Figuras 7D, E). Embriões em diferentes fases de desenvolvimento foram encontrados em uma mesma semente madura (Figura 7F, G).

O número médio de embriões por semente diferiu entre sementes provenientes de frutos polinizados naturalmente e provenientes dos tratamentos de autopolinização e polinização cruzada manual ($H=18,647$, $p<0,001$), sendo maior em frutos provenientes de polinizações naturais de acordo com o teste de Dunn ($p<0,05$) (Tabela 3). Entretanto, foram detectadas mais de 90% de sementes poliembriônicas em todos os tratamentos (Tabela 3). Todas as sementes analisadas apresentaram-se poliembriônicas em 12 dos 15 indivíduos estudados na população de *A. glaucum* (Tabela 4). Foram verificadas diferenças entre o número médio de embriões por semente entre os indivíduos da população ($H=40,111$, $p=0<001$), especificamente entre os indivíduos 2 e 14, com mais embriões por semente, e 3 e 6, com menos embriões por semente, de acordo com o teste de Dunn ($p<0,05$). A presença de sementes poliembriônicas foi verificada em todas as espécies e populações de *Anemopaegma* investigadas, com elevadas taxas de poliembrionia (Tabela 5). O número médio de embriões por semente diferiu entre as espécies, populações e anos analisados ($H=229.401$, $p<0.001$). A amostra de *A. acutifolium* do CCPIU em 2007 foi a que apresentou um maior número médio de embriões por semente e o maior número de embriões em uma mesma semente. Estes valores foram superiores aos observados em 2008 na mesma população e àqueles observados em outras populações da mesma espécie, se equiparando apenas a *A. arvense* var. *puberula* na Fazenda Água Limpa, Uberlândia, MG (Tabela 5).

Discussão

Os resultados obtidos indicam que a população analisada de *Anemopaegma acutifolium* é autofértil como verificado por Firetti (2009), e indicam que a poliembrionia também encontrada por esta autora tem origem nos processos de apomixia esporofítica e pseudogamia. O elevado sucesso reprodutivo observado em flores expostas à polinização natural em *A. acutifolium* difere do verificado para as lianas *A. chamberlaynii* (Sims) Bureau

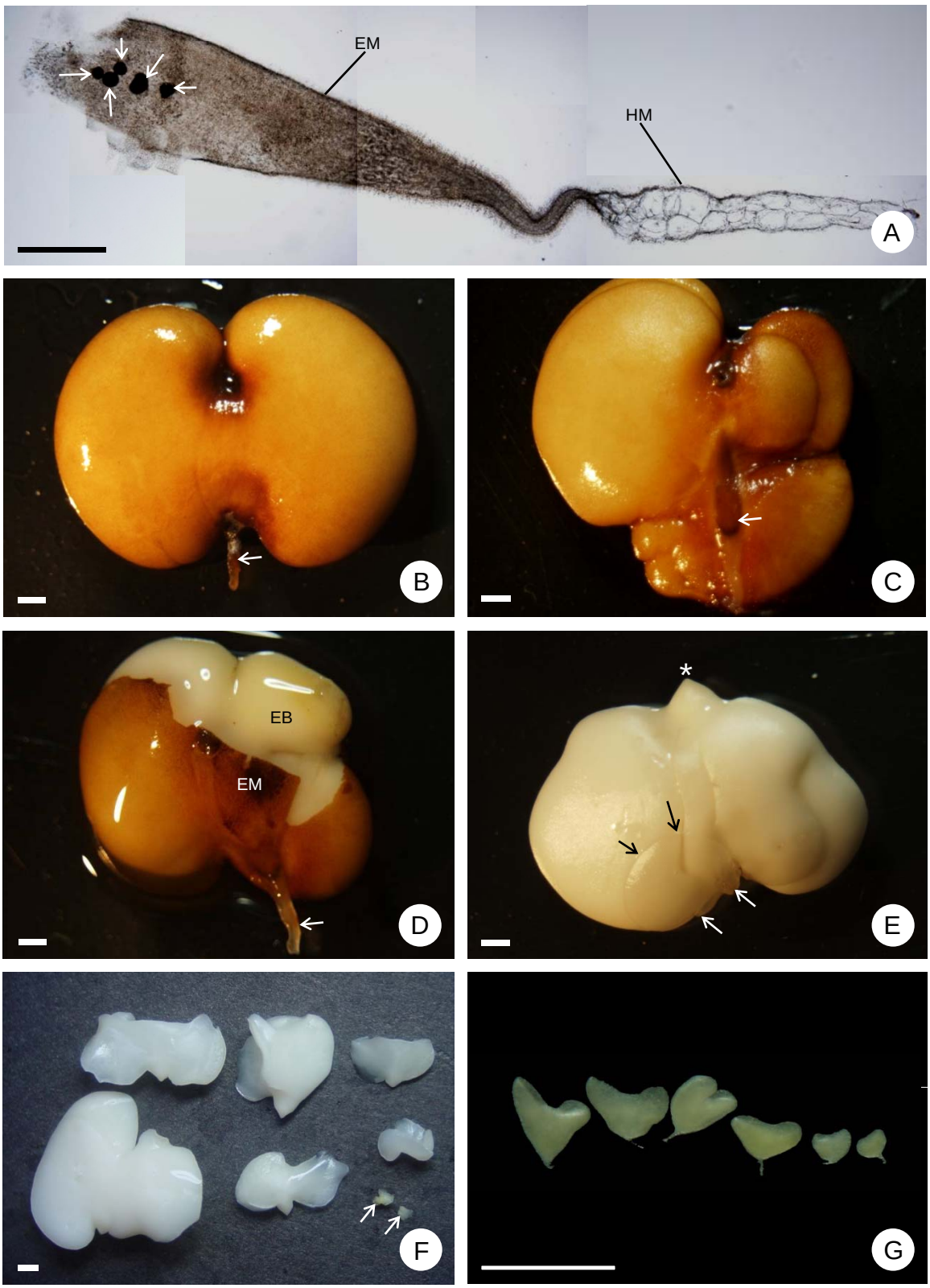
EM
HM
A
B
C
EB
EM
D
*
E
F
G

Figura 7: Sementes fixadas em FAA50 e dissecadas sob microscópio estereoscópico, o tegumento foi descartado e estão aparentes apenas o envoltório membranáceo (EM) e os múltiplos embriões por semente de *A. acutifolium* coletada no CCPIU, Uberlândia, MG (F), e de *Anemopaegma glaucum* coletada nas margens da MG 10, Km 103, Serra do Cipó, Santana do Riacho, MG (A-E, G). A. Envoltório membranáceo e cinco pró-embriões globulares e embriões cordiformes (setas) internamente. B-D. As setas apontam o haustório micropilar do endosperma. B. Embrião envolto pelo EM em semente monoembriônica típica. C. Embriões envoltos pelo EM em semente poliembriônica. D. Envoltório membranáceo sendo retirado para a contagem do número de embriões por semente. E. Conjunto de embriões. Um embrião com a radícula voltada para a região calazal (asterisco) e outro, membranáceo (setas), com a radícula voltada para a região micropilar. F. Oito embriões de uma mesma semente. Os dois embriões menores são apontados pelas setas. G. Seis embriões menores de uma semente com sete embriões. EB: embrião; EM: envoltório membranáceo. Barras=1mm.

Tabela 3: Número médio de embriões por semente, frequência de sementes por classe embriônica (classes definidas pelo número de embriões por semente) e porcentagem de sementes poliembriônicas em *Anemopaegma acutifolium* (Bignoniaceae), avaliando diferentes tipos de polinização na população do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, Uberlândia, MG.

Espécie	**Nº médio de embriões por semente ±DP (n)**	**Frequência de sementes por classe embriônica (%)**														**% de sementes poliembriônicas**
		1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	
Polinização cruzada manual	3,96±1,89a (110) a	4,55	20,00	17,27	20,91	15,45	10,00	8,18	0,91	0,91	0,91	0,91	0,00	0,00	0,00	95,45
Autopolinização manual	4,30±2,32a (100) a	3,00	27,00	20,00	18,00	9,00	8,00	4,00	6,00	1,00	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	97,00
Polinização natural	5,17±2,59b (137) b	2,80	11,19	14,69	13,29	19,58	13,29	6,99	8,39	2,80	0,70	4,20	1,40	0,00	0,70	97,20

Nota: O número médio de embriões por semente apresentou diferença significativa entre os tratamentos de acordo com o teste de Kruskal Wallis ($H=18,647$, $p<0,001$). Médias seguidas por letras diferentes são significativamente distintas de acordo com o teste de Dunn ($p<0,05$).

Tabela 4: Número médio de embriões por semente, frequência de sementes por classe embriônica (classes definidas pelo número de embriões por semente) e porcentagem de sementes poliembriônicas em *Anemopaegma glaucum* (Bignoniaceae), avaliando diferentes indivíduos na população da MG 10, Km 103, Chapéu do Sol, Serra do Cipó, Santana do Riacho, MG.

Indivíduo	**Nº médio de embriões por semente ±DP[a] (n)**	**Frequência de sementes por classe embriônica (%)**										**% de sementes poliembriônicas**
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	3,30±0,95 (10) abc	0,00	20,00	40,00	30,00	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
2	5,14±0,69 (7) a	0,00	0,00	0,00	14,29	57,14	28,57	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
3	3,09±1,14 (11) c	0,00	36,36	36,36	9,09	18,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
4	4,20±1,79 (5) abc	0,00	20,00	20,00	20,00	0,00	40,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
5	3,48±1,39 (31) ac	0,00	29,03	25,81	25,81	12,90	0,00	6,45	0,00	0,00	0,00	100,00
6	3,23±1,18 (26) c	3,85	23,08	38,46	19,23	11,54	3,85	0,00	0,00	0,00	0,00	96,15
7	3,60±1,14 (43) abc	0,00	13,95	37,21	32,56	9,30	4,65	2,33	0,00	0,00	0,00	100,00
8	4,00±0,94 (10) abc	0,00	10,00	10,00	50,00	30,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
9	4,28±1,41 (18) abc	0,00	11,11	22,22	22,22	16,67	27,78	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
10	4,38±1,71 (42) abc	0,00	16,67	19,05	7,14	38,10	11,90	4,76	0,00	0,00	2,38	100,00
11	3,84±1,43 (25) abc	4,00	12,00	24,00	28,00	28,00	0,00	0,00	4,00	0,00	0,00	96,00
12	3,29±1,54 (14) abc	7,14	28,57	28,57	14,29	7,14	14,29	0,00	0,00	0,00	0,00	92,86
13	4,29±1,38 (7) abc	0,00	14,29	14,29	14,29	42,86	14,29	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
14	5,04±1,95 (25) ab	0,00	4,00	20,00	24,00	16,00	8,00	20,00	4,00	0,00	4,00	100,00
15	3,78±1,26 (18) abc	0,00	11,11	38,89	22,22	22,22	0,00	5,56	0,00	0,00	0,00	100,00

Nota: O número médio de embriões por semente apresentou diferença significativa entre os indivíduos de acordo com o teste de Kruskal Wallis (H=40,111, p=0<001). Médias seguidas por letras diferentes são significativamente distintas de acordo com o teste de Dunn (p<0,05).

Tabela 5: Número médio de embriões por semente, frequência de sementes por classe embriônica (classes definidas pelo número de embriões por semente) e porcentagem de sementes poliembriônicas em *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* var *arvense*, *A. arvense* var *petiolata*, *A. arvense* var *puberula* e *A. glaucum* (Bignoniaceae), avaliando diferentes anos e populações.

Espécie	**População/Localização geográfica/ HUFU - Número de registro em herbário**	**Ano**	**Nº médio de embriões por semente ±DP (n)**	**Frequência de sementes por classe embriônica (%)**														**% de sementes poliembriônicas**
				1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	
A. acutifolium	Faz. Água Limpa, Uberlândia, MG 19°05'22"S 48°21'15"W	2006	2,59±1,50 (27) cd	25,93	29,63	22,22	11,11	7,41	0,00	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	74,07
A. acutifolium	CCPIU, Uberlândia, MG 18°58'48.5"S 48°17'45.8"W HUFU 47295, 47296	2007	5,21±2,59 (143) a	2,80	11,19	14,69	13,29	18,88	13,29	6,99	8,39	2,80	0,70	4,20	1,40	0,00	0,70	97,20
		2008	3,48±1,88 (97) bc	13,40	21,65	20,62	19,59	6,19	15,46	0,00	1,03	1,03	1,03	0,00	0,00	0,00	0,00	86,60
A. acutifolium	Localidade 2, Botucatu, SP 22°57'07.1"S 48°29'10.6"W HUFU 50823	2008	2,50±0,97 (50) d	12,00	46,00	24,00	16,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	88,00
A. acutifolium	Localidade 3, Botucatu, SP 22°57'18.9"S 48°31'03.5"W	2008	2,54±1,05 (46) cd	13,04	39,13	34,78	8,70	2,17	2,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	86,96
A. arvense var arvense	Localidade 1, Bauru, SP 22°19'32.7"S 49°00'34.3"W	2008	2,07±0,89 (45) d	31,11	35,56	28,89	4,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	68,89
A. arvense var petiolata	MG 10, Km 53, Serra do Cipó, Jaboticatubas, MG 19°30'58.3"S 43°53'05.7"W HUFU 44986	2006	2,96±1,37 (24) bcd	20,83	8,33	45,83	4,17	20,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	79,17
A. arvense var puberula	E.E. Panga, Uberlândia, MG 19°10'53.52"S 48°23'25.51"W HUFU 48931, 48938	2006	2,97±1,61 (66) cd	13,64	33,33	25,76	12,12	7,58	1,52	4,55	1,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	86,36
A. arvense var puberula	Faz. Água Limpa, Uberlândia, MG 19°05'22"S 48°21'15"W	2006	4,56±1,50 (18) ab	0,00	5,56	22,22	22,22	27,78	5,56	16,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
A. arvense var puberula	PESCAN, Caldas Novas, GO 17º46'45"S 48º40'26"W HUFU 48834	2007	2,44±0,98 (18) cd	11,11	50,00	27,78	5,56	5,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	88,89
A. arvense var puberula	Localidade 1, Bauru, SP 22°19'32.7"S 49°00'34.3"W HUFU 50821, 50824	2004	2,67±0,87 (9) bcd	0,00	55,56	22,22	22,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
A. arvense var puberula	Localidade 2, Botucatu, SP 22°57'07.1"S 48°29'10.6"W HUFU 50820	2008	2,22±0,91 (50) d	22,00	44,00	24,00	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	78,00
A. glaucum	MG 10, Km 103, Serra do Cipó, Santana do Riacho, MG 19°18'19.3"S 43°36'17.5"W HUFU 44909, 44986	2006	3,90±1,52 (308) b	1,62	16,23	26,95	22,08	20,45	7,14	3,90	0,65	0,32	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00	98,38

Nota: O número médio de embriões por semente apresentou diferença significativa entre espécies, populações e anos de acordo com o teste de Kruskal Wallis ($H = 229,401$, $p < 0,001$). Médias seguidas por letras diferentes são significativamente distintas de acordo com o teste de Dunn ($p<0,05$).

& K. Schum. (4,86%) (Correia *et al.* 2006) e *A. laeve* DC. (8,3%) (Carvalho *et al.* 2007) que são autoincompatíveis, podendo ser explicado principalmente pela autofertilidade, apomixia e pseudogamia na presença de polinizadores. Os resultados experimentais confirmaram a importância dos polinizadores para o desenvolvimento de frutos no gênero (Correia *et al.* 2006, Carvalho *et al.* 2007), e na família (Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Dutra & Machado 2001, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), mesmo em espécies autoférteis e apomíticas.

Autopolinizações ou outros cruzamentos que poderiam acarretar zigotos ou embriões pouco vigorosos e o consequente aborto do pistilo, podem promover o desenvolvimento do fruto em espécies apomíticas esporofíticas devido à presença de embriões adventícios que garantiriam o desenvolvimento da semente, evitando o aborto do fruto (Oliveira *et al.* 1992, Koltunow 1993, Costa *et al.* 2004, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). O que poderia justificar a elevada frutificação e conversão de óvulos em sementes em *A. acutifolium*.

Anemopaegma acutifolium se comportou como uma espécie autofértil, onde as autopolinizações foram tão eficazes quanto as polinizações cruzadas, já que não houve diferença no número de óvulos penetrados e fecundados, na porcentagem de frutificação, no número de sementes por fruto, ou no número de embriões por semente. Não parece provável que apenas o desenvolvimento dos embriões adventícios em espécies pseudogâmicas seja responsável pela autofertilidade em *A. acutifolium*, como sugerido para outras espécies (Oliveira *et al.* 1992, Allem 2004, Bittencourt Júnior & Semir 2005, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). Como os embriões adventícios demoram cerca de 120h para começarem a se diferenciar, seria esperado que neste período o desenvolvimento do endosperma em pistilos autopolinizados apresentasse um atraso em relação aos pistilos de polinização cruzada como ocorre em espécies autoincompatíveis de Bignoniaceae (Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006), até que os embriões adventícios iniciassem seu desenvolvimento e o processo de aborto do pistilo fosse interrompido. Entretanto, espécies autoincompatíveis de *Anemopaegma* com período similar de maturação do fruto devem ter os eventos posteriores à polinização avaliados para se confirmar a ocorrência de um atraso no desenvolvimento do endosperma de pistilos autopolinizados em comparação aos provenientes de polinizações cruzadas, e se este atraso seria detectável no intervalo de 120h após a polinização.

A poliploidia, que é responsável pela quebra dos sistemas de autoincompatibilidade gametofíticos - GSI (de Nettancourt 1977, Richards 1986, Levin 2002, Pannell *et al.* 2004,

Barringer 2007), também poderia quebrar os LSI, os quais parecem ter alguma similaridade com os GSI (Richards 1986, Allen & Hiscock 2008). As poliploidizações, principalmente as alopoliploidizações, também podem reduzir os efeitos da depressão endogâmica permitindo o desenvolvimento dos embriões em pistilos autopolinizados (Barringer 2007, Husband *et al.* 2008). Apesar de existirem espécies autoférteis e diplóides na família Bignoniaceae (Dutra & Machado 2001, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Qu *et al.* 2007, Capítulo Introdutório, Capítulo 1), a autofertilidade parece estar associada à poliploidização nos gêneros *Anemopaegma*, *Handroanthus* e *Pyrostegia* (Capítulo 1). Em *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos ocorrem populações autoincompatíveis e diplóides (Gibbs & Bianchi 1993, Barros 2001, Capítulo 2), e populações apomíticas, autoférteis e poliplóides (Costa *et al.* 2004, Capítulo 1, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), sugerindo que poliploidizações possam estar relacionadas à expressão da autofertilidade e da apomixia nesta espécie (Asker & Jerling 1992, Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2007). No gênero *Anemopaegma*, as espécies poliplóides são autoférteis e apomíticas (Firetti 2009, Capítulo Introdutório, Capítulo 1), enquanto as demais são autoestéreis (Correia *et al.* 2006, Carvalho *et al.* 2007, Firetti 2009), também indicando a relação entre poliploidia e modificações no sistema reprodutivo de LSI.

As espécies de *Anemopaegma* aqui analisadas apresentaram apenas populações tetraplóides, apomíticas e autoférteis, podendo fazer parte de um ou mais complexos agâmicos poliplóides como observado para outras famílias de angiospermas (Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2007). As espécies diplóides e sexuadas filogeneticamente próximas às espécies subarbustivas de *Anemopaegma* aqui analisadas devem ser investigadas a fim de se determinar as possíveis espécies parentais do(s) complexo (s) agâmico (s) poliplóide (s) reportado (s) no presente estudo em outros trabalhos de biologia reprodutiva com espécies do gênero (Firetti 2009). Nos complexos agâmicos de *Handroanthus* encontram-se mosaicos de populações diplóides, tetraplóides e hexaplóides com ou sem a expressão da apomixia (Gibbs & Bianchi 1993, Barros 2001, Costa *et al.* 2004, Capítulo 1, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), podendo indicar que mais complexos agâmicos ou mais linhagens poliplóides possam ocorrer neste gênero devido ao possível fluxo gênico entre linhagens poliplóides e entre estas e seus parentais diplóides (Capítulo 2) como observado em outras angiospermas (Hörandl & Paun 2007, Balao *et al.* 2009).

A organização do megagametófito, a fecundação e o desenvolvimento do endosperma em óvulos de *Anemopaegma acutifolium* foi similar àquele observado em outras espécies de

Bignoniaceae (Govindu 1950, Mehra & Kulkarni 1985, Shivaramiah 1998, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Sampaio *et al.* 2007, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). O endosperma é celular, com haustórios micropilar e calazal, se enquadrando no tipo *Catalpa* (Mauritzon 1935). A presença do envoltório membranáceo dos embriões também parece ser uma constante para a família (Hyakutake & Grotta 1965, Mehra & Kulkarni 1985, Sampaio *et al.* 2007, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) e sua origem mista em *A. acutifolium* confirma o encontrado em *H. ochraceus* e *H. chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos (Sampaio *et al.* 2007, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). O fato de nenhuma das sinérgides apresentar aspecto degenerativo antes da descarga do citoplasma do tubo polínico em *A. acutifolium* já foi reportado em outras espécies (Castro 1998), mas difere de *Spathodea campanulata* Beauv. e de outras angiospermas onde o aspecto degenerativo foi observado após a penetração do tubo polínico na micrópila, mas antes do seu contato com a sinérgide (van Went & Willemse 1984, Bittencourt Júnior *et al.* 2003). A penetração da micrópila por mais de um tubo polínico também já havia sido reportada (van Went & Willemse 1984, Castro 1998), mas a descarga do conteúdo citoplasmático nas duas sinérgides que tomam igual aspecto, e o desenvolvimento normal do endosperma nesta situação parece ser algo não estudado. A penetração das duas sinérgides por diferentes tubos polínicos pode indicar que ambas possam emitir sinais para atração dos tubos polínicos.

O desenvolvimento de mais um saco embrionário por óvulo pode ocorrer devido à presença de arquespórios múltiplos (Carmo-Oliveira 1998) ou da presença de aposporia, (Lakshmanan & Ambegaokar 1984), e foi raro em *A. acutifolium*, mas pode ser responsável pela formação de sementes poliembriônicas, embora em baixas proporções. Esse pode ter sido o caso de populações de *A. chamberlaynii* (Correia *et al.* 2005), *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith e *Jacaranda cuspidifolia* Martius ex DC. (C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados), onde ocorreram frequências de sementes poliembriônicas baixas (cerca de 5%), ou nulas (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), indicando a ausência de apomixia esporofítica. Além disso, estas espécies são autoincompatíveis (Correia *et al.* 2005, Capítulo Introdutório, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) contrastando com as espécies apomíticas (Bittencourt Júnior & Semir 2005, Firetti 2009, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados).

Em contraste, a frequência de sementes poliembriônicas foi muito elevada em todas as populações de *Anemopaegma* analisadas neste trabalho, semelhante ao encontrado para três espécies de *Handroanthus* (Costa *et al.* 2004, Bittencourt Júnior 2003, C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados, Capítulo 1). As PEA têm origem muito similar às observadas em *H.*

ochraceus (Costa *et al.* 2004) e *H. chrysotrichus* (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), a partir de células da hipóstase ou do tegumento da região micropilar dos óvulos. Estas células, PEAs, se alongam e se polarizam como o próprio zigoto, caracterizando a presença de apomixia esporofítica em *A. acutifolium*. Os dados obtidos para *A. acutifolium* quanto à origem dos embriões supranumerários através da apomixia esporofítica podem indicar que *A. glaucum* e *A. arvense* também possuam o mesmo mecanismo, dada a elevada porcentagem de sementes poliembriônicas e a ocorrência de poliploidia em todas as populações analisadas (Firetti 2009, Capítulo 1).

Embora as PEA possam se diferenciar em pistilos não polinizados de *Anemopaegma*, isso só ocorre tardiamente, cerca de 120h após a polinização, quando elas também começam a se desenvolver em pistilos polinizados. Por outro lado, as PEAs se desenvolvem em flores de primeiro dia ainda não polinizadas em *H. chrysotrichus* (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). A diferença no tempo necessário à iniciação das PEA pode ser justificada pelo fato de os frutos de *Handroanthus* demorarem cerca de um a dois meses para atingirem a maturidade (Lorenzi 2000, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), enquanto os de *Anemopaegma* podem demorar até um ano. O desenvolvimento de embriões adventícios em pistilos não polinizados e óvulos não fecundados também foi observado em *Citrus* L., parecendo ser uma parte programada do desenvolvimento do óvulo (Koltunow 1993), como sugerido para *H. chrysotrichus* (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). No entanto, por estas plantas serem pseudogâmicas, os embriões adventícios somente conseguem se desenvolver até a fase de semente madura se houver o provimento energético do endosperma.

Em *A. acutifolium* o embrião zigótico parece se desenvolver concomitantemente aos embriões adventícios, bem como em *H. chrysotrichus* e *H. ochraceus*, embora algumas sementes possam conter apenas embriões adventícios (Costa *et al.* 2004, Capítulo 2, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). Os estudos com *Citrus* (Koltunow 1993) e *Eriothecha pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott et Endl., (Malvaceae - Bombacoideae) (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005), por outro lado, revelaram que o embrião zigótico tem o crescimento retardado em relação aos embriões adventícios. Em *E. pubescens*, a predominância de embriões clonais parece justificar a baixa variabilidade genética na população apomítica estudada (Martins & Oliveira 2003), enquanto em *A. arvense* a variabilidade genética é maior dentro das populações que entre populações (Batistini *et al.* 2009). As populações estudadas por estes autores estão localizadas no Estado de São Paulo, sendo que uma delas em Bauru é provavelmente apomítica, como a população amostrada neste estudo. A manutenção da variabilidade genética em *A. arvense* pode estar relacionada à

presença de um embrião zigótico viável e embriões clonais que conservam a heterozigozidade dos ancestrais (Batygina 1999a, b, Allem 2004, Batygina & Vinogradova 2007, Hörandl & Paun 2007), além de plantas com sistemas subterrâneos profundos e resistentes que permitem a coexistência de genótipos de diferentes gerações, como postulado para o subarbusto não apomítico *Jacaranda oxyphylla* (Santos 2008). A elevada variabilidade genética em populações apomíticas também foi verificada para *H. ochraceus* (Ribeiro 1998) e pode ocorrer devido à manutenção da reprodução sexuada e introgressão com os parentais diplóides nos complexos agâmicos de *Handroanthus* (Capítulo 2).

A concentração de complexos agâmicos poliplóides no Cerrado (Oliveira *et al.* 1992, Goldenberg & Shepherd 1998, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, Capítulo 2, C. Mendes Rodrigues, dados não publicados) pode estar relacionada à capacidade destas espécies em ocupar novos habitats, que sejam transitórios ou instáveis especificamente nos períodos inter-glaciais (Stebbins 1971, Asker & Jerling 1992, Levin 2002, Carman 2007). A poliploidia parece ser o principal fator desencadeador de autofertilidade em *A. acutifolium* através da quebra do sistema de autoincompatibilidade (Richards 1986, Levin 2002, Pannell *et al.* 2004, Barringer 2007). As descobertas de espécies apomíticas esporofíticas e poliplóides nas famílias Bignoniaceae (Piazzano 1998, Costa *et al.* 2004, Capítulo 1, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados), Malvaceae - Bombacoideae (Baker 1960, Duncan 1970, Oliveira *et al.* 1992, Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) e Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998), representadas por plantas tropicais perenes, evidenciam que não apenas a apomixia gametofítica possa ser dependente da poliploidia (Richards 1986, 2003, Asker & Jerling 1992, Allem 2004, Whitton *et al.* 2008), mas também a esporofítica.

Referências Bibliográficas

Allem, A. C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long term evolutionary prospects in the angiosperms. **The Botanical Review** 69: 225-251.

Allen, A. M. & Hiscock, S. J. 2008. Evolution and phylogeny of self-incompatibility systems in angiosperms. In: Franklin-Tong, V. (ed.). p. 73-102. **Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms**. Springer-Verlag, Berlin.

Amaral, M. E. C. 1992. Ecologia floral de dez espécies da Tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semidecídua no município de Campinas, SP. **Tese de Doutorado**, Departamento de Ecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Asker, S. E. & Jerling, L. 1992. **Apomixis in plants**. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Ayres, M., Ayres Júnior, M., Ayres, D. L. & Santos, A. A. 2007. **BioEstat: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Bio-Médicas**. Sociedade Civil Mamirauá/CNPQ, Belém.

Baker, H. G. 1960. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). **American Journal of Botany** 47: 296-302.

Balao, F, Casimiro-Soriguer, R., Talavera, M., Herrera, J. & Talavera S. 2009. Distribution and diversity of cytotypes in *Dianthus broteri* as evidenced by genome size variations. **Annals of Botany** 104: 965-973.

Barringer, B. C. 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. **American Journal of Botany** 94: 1527-1533.

Barros, M. G. 2001. Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth & Hook and *T. ochracea* (Cham). Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 255-261.

Batistini, A. P., Telles, M. P. C., Bertoni, B. W., Coppede, J. da S., Môro, F. V., França, S. de C. & Pereira, A. M. S. 2009. Genetic diversity of natural populations of *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae) in the Cerrado of São Paulo State, Brazil. **Genetics and Molecular Research** 8: 52-63.

Batygina, T. B. 1999a. Genetic heterogeneity of seeds in terms of embryology. **Russian Journal of Plant Physiology** 46: 374-388.

Batygina, T. B. 1999b. Genetic heterogeneity of seeds. **Acta Biologica Cracoviensia** 41: 39-50.

Batygina, T. B. & Vinogradova, G. Y. 2007. Phenomenon of polyembryony. Genetic heterogeneity of seeds. **Russian Journal of Development Biology** 38: 126-151.

Bayer, R. J. & Chandler, G. T. 2007. Evolution of polyploid agamic complexes: a case study using the *Catipes* group of *Antennaria*, including the *A. rosea* complex (Asteraceae: Gnaphalieae). In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 317-336. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2005. Late-acting, self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). **International Journal of Plant Sciences** 166: 493-506.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2006. Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). **Australian Journal of Botany** 54: 315-324.

Bittencourt Júnior, N. S., Gibbs, P. E. & Semir, J. 2003. Histological study of post-pollination events in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniacceae), a species with late-acting self incompatibility. **Annals of Botany** 91: 827-834.

Carman, J. G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society** 61: 51-94.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Carmo-Oliveira, R. 1998. Estudos embriológicos e aspectos da morfologia floral em Vochysiaceae. **Tese de Doutorado**, Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brasil.

Carvalho, A. T., Santos-Andrade, F. G. & Schlindwein, C. 2007. Baixo sucesso reprodutivo em *Anemopaegma laeve* (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco. **Revista Brasileira de Biociências** 5-supl. 1: 102-104.

Castro, N. M. 1998. Desenvolvimento do óvulo e aspectos da biologia da reprodução de espécies de Velloziaceae da Serra do Cipó. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. B. & Lima, H. A. 2005. Produção de frutos e germinação das sementes de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae)-Um registro de poliembrionia. **Sitientibus Série Ciências Biológicas** 5: 68-71.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. B. & Lima, H. A. 2006. Biologia floral e polinização de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae). **Lundiana** 7: 39-46.

Costa, M. E., Sampaio, D. S., Paoli, A. A. S. & Leite, S. C. A. L. 2004. Poliembrionia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 395-406.

De Nettancourt, D. 1977. **Incompatibility Systems in Angiosperms**. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

Duncan, E. J. 1970. Ovule and embryo ontogenesis in *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns. **Annals of Botany** 34: 677-683.

Dutra, J. C. S. & Machado, V. L. L. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante seu período de floração. **Neotropical Entomology** 30: 43-

53.

Feder, N. & O'Brien, T. P. 1968. Plant microtechnique, some principles and new methods. **American Journal of Botany** 55:123-142.

Ferreira, M. B. 1973. Bignoniaceae do Distrito Federal - I. O gênero *Anemopaegma* Mart. **Oréades** 4: 28-39.

Ferreira, D. F. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria**, São Carlos: 255-258.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Gentry, A. H. 1974. Coevolutionary patterns in central american Bignoniaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61: 728-759.

Gentry, A. H. 1992a. A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 79: 53-64.

Gentry, A. H. 1992b. Bignoniaceae - Part. II. (Tribe Tecomae). **Flora Neotropica Monog**. 25(II): 1-370.

Gerrits, P. O. & Smid, L. 1983. A new, less toxic polymerisation system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy** 132: 81-85.

Gibbs, P. E. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. **Revista Brasileira de Botânica** 13: 125-136.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibily. **Botanica Acta** 106: 64-71.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LST: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. **Annals of Botany** 84: 449-457.

Gobatto-Rodrigues, A. A. & Stort, M. N. S. 1992. Biologia floral e reprodução de *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 15: 37-41.

Goldenberg, R. & Shepherd, G. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. **Plant Systematics and Evolution** 211:13-29.

Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberber, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american**

tropical seasonal ecosystem. Vol. 1: origin, structure, dynamics and plant use. Ulm: Reta Verlag, Germany.

Govindu, H. C. 1950. Studies in the embryology of some members of the Bignoniaceae. **Proceedings of the Indian Academical Science** 32:164-178.

Hörandl, E. & Paun, O. 2007. Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials. In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 169-194. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Husband, B. C., Ozimec, B., Martin, S. L. & Pollock, L. 2008. Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: current trends and insights from syntetic polyploids. **International Journal of Plant Sciences** 169: 195-206.

Hyakutake, S. & Grotta, A. S. 1965. Contribuição ao estudo morfológico e anatômico de *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellfeld. var. *petiolata* Bur. Bignoniaceae. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica de São Paulo** 3: 51-78.

Johansen, D. A. 1940. **Plant microtechenique**. Mc Graw-Hill Book Company, New York.

Koltunow, A. M. 1993. Apomixis: embryo sac and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The Plant Cell** 5: 1425-1437.

Koltunow, A. M., Soltys, K., Nito, N. & Mcclure, S. 1995. Anther, ovule, seed, and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. **Canadian Journal of Botany** 73: 1567-1582.

Koltunow, A. M., Hidaka, T. & Robinson, S. P. 1996. Polyembryony in *Citrus*. **Plant Physiology** 110: 599-609.

Koltunow, A. M. & Grossniklaus, U. 2003. Apomixis: A developmental perspective. **Annual Review of Plant Biology** 54: 547-574.

Lakshmanan, K. K. & Ambegaokar, K. B. 1984 Polyembryony. In: Johri, B. M. (ed.). p. 445-474. **Embryology of Angiosperms.** Springer Verlag, Berlin.

Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford

Lohmann, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignonieae, Bignoniaceae). **American Journal of Botany** 93:304-318.

Lorenzi, H. 2000. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, Nova Odessa.

Maheshwari, P. 1950. **An Introduction to the Embryology of Angiosperms**. Tata McGraw-Hill, New Dehli.

Martins, R. L. & Oliveira, P. E. 2003. RAPD evidence for apomixis and clonal populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). **Plant Biology** 5: 338-340.

Mauritzon, J. 1935. Etwas uber die embryologie der Bignoniaceen. **Botaniska Notser** 1935:60-77.

McDowell, E. M & Trump, B. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine** 100: 405-414.

Mehra, K. R. & Kulkarni, A. R. 1985. Embryological studies in Bignoniaceae. **Phytomorphology** 35:239-251.

Mendes-Rodrigues, C., Carmo-Oliveira, R., Talavera, S., Arista, M., Ortiz, P. L. & Oliveira, P. E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombocoideae). **Plant Biology** 7: 533-540.

Morawetz, W. 1986. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution** 152: 49-100.

Nogler, G. A. 1984. Gametophytic apomixis. In: Johri, B. M. (ed.). p. 475-518. **Embryology of Angiosperms.** Springer Verlag, Berlin.

Oliveira, P. E., Gibbs, P. E., Barbosa, A. A. & Talavera, S. 1992. Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the brazilian cerrados. **Plant Systematics and Evolution** 179:207-219.

Pannell, J. R., Obbard, D. J. & Buggs, R. J. A. 2004. Polyploidy and the sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua*? **Biological Journal of the Linnean Society** 82: 547-560.

Piazzano, M. 1998. Números cromosómicos en Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** 26: 179-189.

Qu, R., Li, X., Luo, Y., Dong, M., Xu, H., Chen, X. & Dafni, A. 2007. Wind-dragged corolla enhances self-pollination: a new mechanism of delayed self-pollination. **Annals of Botany** 100: 1155–1164.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 29: 467-501.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 33: 589-639.

Ribeiro, S. P. 1998. The role of herbivory in *Tabebuia* spp. life history and evolution. **Phd Thesis**, University of London, London.

Richards, A. J. 1986. **Plant Breeding Systems**. George Allen & Unwin, London.

Richards, A. J. 2003 Apomixis in flowering plants: an overview. **Philosophical Transactions of the Royal Society-Biological Sciences** 358:1085-1093.

Sage, T. L., Bertin, R. I. & Williams, E. G. 1994. Ovarian and other late-acting self-incompatibility systems. In: E. G. Williams et al. **Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants**. 116-140. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Sampaio, D. S., Costa, M. E. & Paoli, A. A. S. 2007. Ontogenia da semente de *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 30: 295-307.

Santos, E. M. G. 2008. Biologia reprodutiva de *Jacaranda oxyphylla* Cham. e *Zeyheria montana* Mart. (Bignoniaceae). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu, Botucatu, SP.

Shivaramiah, G. 1998. Endosperm development in Bignoniaceae. **Phytomorphology** 48:45-50.

Souza, L. A., Iwazaki, M. C. & Moscheta, I. S. 2005. Morphology of pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC) Stand. (Bignoniaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 48: 407-418.

SPSS. 2000. **Systat version 10**. SPSS Inc., San Francisco, Califórnia.

Stebbins, G. L. 1971. **Chromosomal Evolution in Higher Plants.** J. W. Arrowsmith Ltd., Bristol.

Talent, N. & Dickinson, T. A. 2007. Apomixis and hybridization in Rosaceae subtribe Pyrinae Dumort.: a new tool promises new insights. In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 301-316. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

van Went, J. L. & Willemse, M. T. M. 1984. Fertilization. In: Johri, B. M. (ed.). p. 273-317. **Embryology of Angiosperms.** Springer Verlag, Berlin.

Whitton, J., Sears, C. J., Baack, E. J. & Otto, S. 2008. The dynamic nature of apomixis in the Angiosperms. **International Journal of Plant Sciences** 169: 169-182.

Ynagizawa, Y. A. N. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five Melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50: 1043-1050.

HIBRIDAÇÃO E BIOLOGIA REPRODUTIVA EM ESPÉCIES SUBARBUSTIVAS DE *ADENOCALYMMA* (BIGNONIACEAE)

Resumo

Embora consideradas raras, existem suspeitas sobre a possível origem híbrida de algumas espécies de Bignoniaceae. Grupos onde as hibridações são relatadas normalmente apresentam espécies autoférteis, apomíticas e poliplóides. *Adenocalymma campicola* e *A. peregrinum* ocorrem em simpatria no município de Uberlândia, MG e são encontradas florescendo em sincronia. O objetivo do presente trabalho foi estudar a viabilidade de cruzamentos interespecíficos entre *A. campicola* e *A. peregrinum*, relacionando a interfertilidade ao sistema reprodutivo e à ploidia. Para isso a biologia floral e os visitantes florais dessas espécies foram investigados. Testamos a capacidade de formação de frutos em flores não manipuladas, emasculadas, não polinizadas, autopolinizadas manualmente ou que passaram por polinizações cruzadas intra ou interespecíficas. O crescimento dos tubos polínicos e dos ovários após as autopolinizações e polinizações cruzadas foram avaliados. Dimensões dos frutos formados nas polinizações experimentais, número de sementes por fruto, germinabilidade dessas sementes e o número cromossômicos das plântulas formadas também foram mensuradas. Nossos resultados mostraram que *A. campicola* e *A. peregrinum* apresentam biologia floral muito semelhante, com flores amarelas que duram cerca de 24 horas e apresentam néctar como recompensa floral, sendo polinizadas principalmente por abelhas da tribo Centridini. Embora ocorra a penetração dos óvulos e o crescimento dos ovários, a maioria dos pistilos autopolinizados aborta poucos dias após a polinização, caracterizando a presença de um sistema de autoincompatibilidade de ação tardia. A baixa eficácia reprodutiva verificada nessas espécies pode estar relacionada à ocorrência de autopolinizações em condições naturais e à predação dos ovários. A viabilidade de cruzamentos interespecíficos com a produção de frutos e sementes viáveis entre *A. campicola* e *A. peregrinum* sugere que o fluxo gênico possa ocorrer naturalmente entre as espécies. Embora a hibridação acarrete muitas vezes em poliploidizações, estas não parecem estar presentes nas espécies estudadas, o que pode estar relacionado com a conservação do sistema de autoincompatibilidade nessas populações.

Palavras-chave: autoincompatibilidade, fluxo gênico interespecífico, híbridos diplóides.

Introdução

As hibridações são consideradas uma importante fonte de variabilidade genética nas angiospermas, podendo dar origem a novas linhagens evolutivas (Anderson 1949, Ellstrand *et al.* 1996, Arnold *et al.* 1999, Ellstrand & Schierenbeck 2000, Riseberg *et al.* 2003, Judd *et al.* 2008). Embora a hibridação possa ser considerada um evento comum, ela ocorre preferencialmente em espécies que realizam fecundação cruzada e são polinizadas por insetos, o que permite a ocorrência de fluxo gênico interespecífico (Ellstrand *et al.* 1996). Os híbridos são, geralmente, espécies de plantas perenes que possuem algum modo de reprodução vegetativa, gerando tempo disponível para o sucesso reprodutivo sexuado (Ellstrand *et al.* 1996, Ellstrand & Schierenbeck 2000, Wendt *et al*. 2001). Embora pareçam se originar através de espécies que realizam preferencialmente fecundações cruzadas, os híbridos tendem a ser autoférteis, facilitando a ocorrência da reprodução sexuada (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Wendt *et al.* 2001, Allen & Hiscock 2008).

A ocorrência de híbridos poliplóides (alopoliplóides) é mais comum que a de híbridos diplóides, visto que a duplicação do genoma evita problemas de pareamento cromossômico e esterilidade (Hegarty & Hiscock 2005). Os alopoliplóides ainda parecem ser os responsáveis pela expressão da apomixia, que permite a reprodução assexuada via sementes (Carman 1997, 2007) e a consequente estabilização dos híbridos (Ellstrand & Schierenbeck 2000). Embora os híbridos possam ter sucesso reprodutivo reduzido ou serem estéreis, em muitos casos são tão ou mais vigorosos que as espécies parentais (Riseberg 1995, Arnold *et al.* 1999, Ellstrand & Schierenbeck 2000, Wendt *et al* 2001, Riseberg *et al.* 2003). A combinação dos genomas parentais pode gerar caracteres extremos ou novos e fazer com que os híbridos se adaptem a novos habitats, promovendo o isolamento e uma possível especiação (Ellstrand & Schierenbeck 2000, Abbot *et al.* 2003, Riseberg *et al.* 2003, Hegarty & Hiscock 2005). A rápida colonização de novos habitats pode fazer com que os híbridos se comportem como plantas invasoras, as quais podem alterar a estrutura de comunidades e se tornarem importantes pestes para a agricultura (Ellstrand & Schierenbeck 2000).

A família Bignoniaceae é representada por plantas perenes, polinizadas por animais e que são predominantemente autoincompatíveis (Gentry 1980, 1992, Gibbs 1990, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Amaral 1992, Bittencourt Júnior 2003, Capítulo Introdutório, Capítulos 1, 5, 6), características comuns aos grupos que apresentam hibridações (Ellstrand *et al.* 1996). Existem suspeitas sobre a possível origem híbrida de algumas espécies da família (Gentry 1980, 1990, 1992, Firetti 2009, Capítulo 1), e cruzamentos interespecíficos realizados

manualmente geram frutos e sementes viáveis entre espécies dos gêneros *Anemopaegma* Mart. ex Meisn. (Firetti 2009) e *Handroanthus* Mattos (Bittencourt Júnior 2003, Capítulo 2). Algumas espécies desses gêneros que são capazes de gerar frutos em polinizações interespecíficas foram relatadas como autoférteis, poliplóides (Piazzano 1998, Firetti 2009, Capítulo 1, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) e apomíticas (Costa *et al.* 2004, Capítulo 3, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). Entretanto, também foram relatados cruzamentos interespecíficos experimentais entre espécies diplóides de *Handroanthus* (Bittencourt Júnior 2003, Capítulo Introdutório) que podem ter híbridos estabelecidos na natureza. *Anemopaegma* e *Handroanthus* são gêneros com um grande número de espécies amplamente distribuídas em diferentes Biomas (Gentry 1992, Lohmann 2006, Grose & Olmstead 2007, Lohmann, no prelo) e podem ter tido as hibridações como um importante fator catalisador de sua diversificação.

Adenocalymma Mart. ex Meisn. também é um dos gêneros com maior número de espécies em Bignoniaceae, e apesar de ser constituído principalmente por lianas, possui alguns representantes subarbustivos no Cerrado brasileiro (Lohmann 2006, Lohmann, no prelo). Com base em dados de filogenia molecular, o gênero *Adenocalymma* teve o seu número de espécies ampliado, englobando os gêneros *Memora* Miers e *Sampaiella* J.C. Gomes (Lohmann 2006, Lohmann, no prelo). As espécies subarbustivas de *Adenocalymma* possuem flores amarelas, tubulares, de odor adocicado, que são polinizadas por abelhas e podem ocorrer em simpatria. E, embora possam possuir diferentes períodos de floração (Gentry 1980, Amaral 1992), existem relatos de florescimento de *Adenocalymma peregrinum* (Miers) L. Lohmann durante todo o ano (Nunes 2001), o que pode ser estimulado pela ação do fogo e por ações antrópicas em áreas de Cerrado (Hoffmann & Moreira 2002). A mudança na fenologia de floração das espécies de *Adenocalymma* subarbustivas de Cerrado sujeitas ao rebrotamento constante pode fazer com que os períodos de floração distintos (Amaral 1992) se sobreponham, facilitando a ocorrência de hibridações.

Adenocalymma campicola (Pilg.) L. Lohmann e *A. peregrinum* faziam parte do gênero *Memora* (Lohmann 2006, Lohmann, no prelo), totalmente desconhecido quanto aos sistemas de polinização e reprodução. Estas espécies ocorrem em simpatria no município de Uberlândia, MG e são registradas para os mesmos estados brasileiros em alguns casos (Lohmann, no prelo), o que viabiliza o fluxo gênico. *Adenocalymma peregrinum* é típica do Cerrado e é considerada uma importante invasora de pastagens (Nunes 1999, 2001, Grassi *et al.* 2005, Marchetti 2006), podendo ser o resultado de hibridações. O objetivo do presente trabalho foi testar a viabilidade de cruzamentos interespecíficos e sua relação com o tipo de

sistema reprodutivo e com a ploidia das populações de *A. campicola* e *A. peregrinum*.

Material e Métodos

Espécies estudadas e áreas de estudo – Adenocalymma campicola é um arbusto cespitoso e seus ramos flexíveis podem atingir mais de 2m de altura (Figura 1A). A filotaxia é oposta cruzada, como na maioria das espécies de Bignoniaceae, embora um indivíduo da população analisada tenha apresentado filotaxia verticilada. As folhas são pecioladas, bi ou tripinadas e imparipinadas (Figura 1F). Os foliólulos são estreitos e lanceolados, tendendo a ser sésseis ou a apresentar curtos peciólulos quando simples e são sempre peciolados quando compostos (Figura 1F). O pedicelo é muito curto, sendo a flor praticamente séssil (Figura 1B). O cálice é verde escuro, 5-dentado, apresentando nectários extraflorais e tricomas glandulares que tornam sua textura pegajosa ao toque (Figuras 1B). A corola é amarelo ouro, glabra e sem guias de néctar (Figuras 1C, D). Os grãos de pólen possuem coloração amarelada quando observados a olho nu. O estaminódio é inconspícuo e branco (Figura 1E), mas apresentou anteras com grãos de pólen em alguns dos indivíduos analisados. O ovário é séssil e o estilete eleva o estigma acima dos estames em quase todos os casos (Figura 1E), sendo o estigma bífido é sensitivo. A flor possui um odor extremamente adocicado e produz um néctar doce e abundante no disco nectarífero alojado na base do ovário (Figura 1E). O fruto é uma cápsula septicida, verde escuro (Figura 1G), com os mesmos nectários extraflorais e tricomas glandulares encontrados no cálice, e está completamente maduro três meses após a polinização. Esta espécie ocorre nos estados de Mato Grosso, Bahia e Goiás (Lohmann, no prelo), embora existam registros para Minas Gerais, e neste estado a espécie já tenha sido considerada vulnerável à extinção (COPAM 1997).

Adenocalymma peregrinum também é um arbusto cespitoso (Figura 2A), mas de menor porte que *A. campicola*. As características que diferenciam *A. peregrinum* de *A. campicola* são as folhas que podem ser bi, trifolioladas, pinadas ou bipinadas, e quando bipinadas, apenas os folíolos basais são compostos (Figura 2B). Os folíolos e foliólulos são ovados, variando bastante quanto ao tamanho e a largura dentro e entre plantas (Figura 2B). A flor é sustentada por um pedicelo com cerca de 1,6cm (Figura 2E). O cálice é verde claro e, quando se dá a protrusão da corola, ele se rompe como um opérculo e forma uma ou duas fendas longitudinais, tornando-se espatáceo ou bilabiado com as margens danificadas (Figuras 2D, E). Cálice e fruto apresentam esparsos tricomas lepidotos, sendo praticamente glabros, e carecem dos nectários extraflorais (Figuras 2E, F). Os grãos de pólen são brancos quando

Figura 1. *Adenocalymma campicola* no CCPIU, Uberlândia, MG. A. Subarbusto cespitoso. B. Botão em pré-antese e cálice 5-partido. C. Flores completando a abertura da corola. D. Flor aberta com lobos da corola distendidos. E. Flor aberta longitudinalmente e desenhada sob câmara clara em microscópio estereoscópico. O cálice foi retirado. Observa-se a disposição dos verticilos florais. A seta aponta o estigma. F. Folha tripinada. G. Frutos em desenvolvimento. EST: estaminódio; NEC: nectário. Barra=0,5cm (E). Foto A: Marcelo Pace. Foto F: Thaíssa B. J. Engel.

Figura 2. *Adenocalymma peregrinum*. A. Subarbusto cespitoso. B. Heterofilia. C. Inflorescência. D. Protrusão da corola no botão floral e rompimento do cálice como um opérculo (seta). E. Flor aberta e cálice espatáceo. F. Fruto quase maduro. Fotos A, B: Marcelo Pace. Foto C: Paulo Eugênio A. M. Oliveira. Foto E: Bia Baker.

observados a olho nu e as demais características da espécie correspondem às descritas para *A. campicola* (Figura 2C). *Adenocalymma peregrinum* ocorre do Paraná a Minas Gerais, e nos estados de Mato Grosso e Goiás (Lohmann, no prelo), e sua ocorrência como invasora também é reportada para o estado de Mato Grosso do Sul (Nunes 2001, Grassi *et al.* 2005).

O trabalho de campo foi realizado de 2006 a 2009 em áreas de campo sujo nas adjacências da RPPN do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU) (18°58’48.5”S 48°17’45.8”W), onde ocorriam as duas espécies, e na Fazenda Campo Alegre (18º58’43.83”S e 48º14’59.73”W), onde ocorreu apenas *A. peregrinum*, ambas no município de Uberlândia, MG. O material testemunho foi depositado no *Herbarium Uberlandense*, Uberlândia, MG, com os números de registro: *A. campicola* (CCPIU - HUFU 45287) e *A. peregrinum* (Fazenda Campo Alegre - HUFU 47293, CCPIU - HUFU 44908, HUFU 48925). A identificação do material Botânico foi gentilmente confirmada pela especialista Dra. L. G. Lohmann.

Biologia floral - Para a análise dos eventos florais em *A. campicola*, foram ensacados, com sacos de organza, 47 botões em pré-antese de 10 indivíduos diferentes do CCPIU em junho de 2006 e, em *A. peregrinum*, foram ensacados, com sacos de organza, 10 botões em pré-antese de 5 indivíduos da população da Fazenda Campo Alegre em janeiro de 2007. As observações foram realizadas em dois dias consecutivos, acompanhando o comportamento de cada flor desde o início da antese. Foram avaliados o horário de abertura floral, o início da produção de néctar, o início da produção de odor, coloração das anteras, sensitividade estigmática e a duração da antese.

A viabilidade polínica foi estimada através da coloração com Carmim Acético, sendo considerados grãos de pólen inviáveis aqueles com tamanho reduzido e ausência de citoplasma (Dafni *et al.* 2005). Para isso, foram armazenados em etanol 70% 10 botões em pré-antese de *A. campicola* e nove de *A. peregrinum* coletados de cinco indivíduos diferentes por espécie no CCPIU. A lâmina contendo todo o conteúdo de uma antera de cada botão floral foi montada com uma gota de glicerina 50% (solução aquosa) e uma gota de Carmim Acético (Dafni *et al.* 2005). As observações foram realizadas sob microscópio óptico Olympus BX51 e 300 grãos de pólen foram analisados por lâmina.

Para o estabelecimento da razão pólen/óvulo foi realizada a contagem do número de óvulos por ovário e estimado o número de grãos de pólen por flor (Cruden 1977). Para estimar o número de grãos de pólen por flor utilizaram-se 16 botões em pré-antese de oito indivíduos de *A. campicola* e 10 botões de seis indivíduos de *A. peregrinum* coletados no CCPIU e armazenados em etanol 70%. O conteúdo de duas anteras de cada botão foi

misturado a uma solução aquosa de 1ml de glicerol 50% e a contagem realizada em Câmara de Neubauer (Dafni *et al.* 2005) sob microscópio óptico Olympus BX51. Para a contagem do número de óvulos por ovário foram dissecados, sob microscópio estereoscópico Olympus SZX12, 116 ovários de *A. campicola* e 113 de *A. peregrinum* coletados em pelo menos cinco indivíduos diferentes no CCPIU.

Para as medições de volume e concentração de néctar foram ensacados, com sacos de organza, 36 botões em pré-antese de cinco indivíduos diferentes de *A. campicola* e de nove indivíduos diferentes de *A. peregrinum*. No dia seguinte, durante a antese floral, as medições de volume e concentração de néctar foram feitas em três intervalos diferentes do dia, utilizando-se flores diferentes em cada intervalo. Para se estimar o volume acumulado utilizaram-se microcapilares de cinco e 10 microlitros, e para se estimar a concentração do néctar utilizou-se refratômetro de mão para medição de açúcares solúveis Eclipse, com escala de 1% (Kearns & Inouye 1993). Flores que não apresentavam néctar não foram incluídas em figuras ou análises estatísticas.

Visitantes florais - Foram realizadas observações dos visitantes florais em 10 indivíduos de *A. campicola* no CCPIU ao longo de nove dias, totalizando 29 horas e 15 minutos de observação. As observações dos visitantes florais de *A. peregrinum* foram realizadas em 22 indivíduos na Fazenda Campo Alegre ao longo de oito dias, totalizando 20 horas e 19 minutos de observação. Realizaram-se rodízios de 15 a 60 minutos de observação entre os indivíduos de 8:00h às 17:00h. As seções de observação foram separadas em quatro intervalos de duas ou três horas cada. Visitantes florais diferentes de abelhas foram observados, mas suas visitas não foram quantificadas.

O comportamento e o número de visitas das abelhas foram registrados e a frequência de visitação das flores por espécie foi calculada (número de visitas/hora). Foram considerados pilhadores de néctar aqueles visitantes que não penetraram o tubo da corola e precisaram perfurar a base do tubo ou utilizar as perfurações já realizadas por outros visitantes florais para atingirem a câmara nectarífera. Foram considerados polinizadores ocasionais aqueles que penetraram o tubo da corola e realizaram coleta de néctar ou pólen. Eles geralmente possuem porte reduzido e tocam o estigma apenas quando estão coletando pólen. Já os polinizadores efetivos penetraram no tubo da corola em busca de néctar e tocaram pistilo e anteras praticamente todas as vezes que visitaram a flor. Apenas o primeiro indivíduo observado de cada espécie de abelha foi capturado, asfixiado com éter, montado, etiquetado e depositado na coleção entomológica do Instituto de Biologia da UFU. Os demais indivíduos observados no campo foram identificados por comparação e a identificação das abelhas capturadas foi

confirmada pelos especialistas MsC. Leonardo Correia da Rocha, Dra. Cláudia Inês Silva, Dra. Solange Cristina Augusto e Dr. Fernando Silveira.

Sistema reprodutivo - Como os experimentos de polinizações experimentais foram realizados em diferentes áreas e estações reprodutivas o número de indivíduos utilizado em cada estação variou de três a 21 em *A. campicola* e de 8 a 21 em *A. peregrinum* no CCPIU e foi de 28 para *A. peregrinum* na Fazenda Campo Alegre. Para as polinizações experimentais, as inflorescências contendo apenas botões florais foram ensacadas com sacos de organza para excluir os potenciais polinizadores. Posteriormente, foram realizadas autopolinizações e polinizações cruzadas manuais em flores de primeiro dia emasculadas antes da polinização. Em autopolinizações, utilizou-se o pólen da mesma flor polinizada e em polinizações cruzadas (intra ou interespecíficas) utilizou-se o pólen de indivíduos distantes, pelo menos, 10m dos indivíduos polinizados. Alguns botões em pré-antese ensacados foram apenas marcados para checar a ocorrência de autopolinização espontânea e outros foram emasculados antes de serem reensacados (teste para apomixia autônoma). A produção natural de frutos foi monitorada através de botões marcados, mas não ensacados. O índice de autoincompatibilidade (ISI) foi determinado através da razão entre a produção de frutos de autopolinizações sobre a de polinizações cruzadas (Bullock 1985). Também foi determinada a razão entre a produção natural de frutos e a produção de frutos provenientes de polinizações cruzadas como uma estimativa de eficácia reprodutiva (RE) (Ruiz & Arroyo 1978).

Para a análise do crescimento *in situ* dos tubos polínicos, pistilos de autopolinizações e polinizações cruzadas adicionais foram coletados em diferentes indivíduos nos intervalos de 24, 48 e 72 horas após a polinização, sendo coletados seis pistilos por tratamento e por intervalo em *A. campicola*, e de três a seis pistilos por tratamento e por intervalo em *A. peregrinum*. Os pistilos foram imediatamente armazenados em etanol 70% após a coleta. Os pistilos foram amolecidos em solução aquosa de NaOH 9N em estufa a cerca de 46ºC por 15 minutos. Posteriormente, foram lavados em água corrente, corados com solução aquosa de azul de anilina (adaptado de Martin 1959) e esmagados para que fosse feita a análise sob microscópio óptico de fluorescência Zeiss Axioplan. Durante a análise, foi registrado para cada pistilo se havia grãos de pólen germinando, e se os tubos polínicos atingiam o ovário e penetravam óvulos.

Foram realizadas medições de altura e largura em ovários de pistilos provenientes de autopolinizações e polinizações cruzadas manuais coletados 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a polinização, e em ovários de pistilos não polinizados provenientes de flores emasculadas coletados 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a abertura da flor. As medições foram realizadas

com paquímetro digital Digimess. Foram analisados de cinco a dez pistilos por tratamento e por intervalo em *A. campicola* e de quatro a oito pistilos por tratamento e por intervalo em *A. peregrinum*. Todos os pistilos foram fixados em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump 1976) em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2.

O desenvolvimento dos frutos foi monitorado por cerca de três a quatro meses após a última polinização experimental. Alguns dos frutos desenvolvidos em polinizações naturais ou experimentais em *A. campicola* e *A. peregrinum* foram coletados e tiveram seu comprimento e o número médio de sementes por fruto mensurados. Para o cálculo da conversão de óvulos em sementes dividiu-se o número médio de sementes por fruto em cada tratamento pelo número médio de óvulos por ovário de cada espécie, e o total foi multiplicado por 100. A presença ou ausência de embrião também foi verificada nas sementes desses frutos. A seleção de sementes com embrião foi realizada analisando-se as sementes contra a luz fluorescente, sendo possível visualizar a presença (opacidade) ou ausência (translucidez) de embrião no corpo da semente através da translucidez e também pelo volume do corpo da semente.

Para a germinação das sementes provenientes de frutos desenvolvidos naturalmente e a partir de polinizações manuais interespecíficas foram utilizadas caixas Gerbox® forradas com uma camada de algodão e uma folha de papel filtro umedecidas com água destilada. As sementes foram postas para germinar à temperatura ambiente e sob luz natural. O critério utilizado para avaliar a germinação foi a protrusão da radícula. Para que o desenvolvimento subsequente da plântula pudesse ser observado elas foram transferidas para bandejas celularizadas de poliestireno contendo substrato Plantmax®.

Análise do número cromossômico - Foram obtidos meristemas apicais radiculares de *A. campicola* e *A. peregrinum* a partir da germinação de sementes provenientes de frutos desenvolvidos de polinizações naturais ou interespecíficas. Os meristemas radiculares foram pré-tratados em PDB (Para-diclorobenzeno-Aldrich), solução saturada, por quatro horas entre 16º e 18°C. As radículas foram fixadas em solução Carnoy 3:1 (3 partes de etanol absoluto P.A. : 1 parte de ácido acético glacial) por 24 horas e armazenadas em etanol 70% em freezer abaixo de 0ºC. Para a confecção das lâminas, os ápices radiculares foram digeridos em solução de HCl 5N por 20 minutos em temperatura ambiente e submetidos à técnica usual de esmagamento. As lamínulas foram removidas após a imersão em nitrogênio líquido. A coloração foi realizada com solução de Giemsa a 2%, variando de 10 a 30 minutos (Guerra 1983). Após a secagem das lâminas, estas foram montadas com resina semipermanente Entellan®. Foram analisadas mais de uma lâmina de cada amostra e contaram-se pelo menos

20 células com bom espalhamento e morfologia cromossômica nas quais o número tenha permanecido constante. A contagem do número cromossômico foi realizada sob microscópio óptico Olympus BX51 e placas metafásicas foram fotografadas com auxílio de câmera digital Olympus DP70.

Análises estatísticas - A normalidade não foi testada para a realização de ANOVA de dois fatores. Foram utilizados ANOVA de dois fatores e o teste de Tukey para comparações *a posteriori* através do programa Sisvar (Ferreira 2000), nas seguintes análises. Nas comparações entre as duas espécies e os dois primeiros intervalos de análise quanto à concentração e ao volume de néctar. Nas comparações entre os três tratamentos e os cinco intervalos após a polinização quanto a altura e largura dos ovários. E nas comparações entre as espécies *A. peregrinum* e *A. campicola*, e entre os tratamentos de polinização interespecífica e polinização natural quanto ao comprimento do fruto, número de sementes por fruto e porcentagem de sementes com embrião (os dados de porcentagem não foram transformados). O comprimento dos frutos e a porcentagem de sementes com embrião também foram comparados entre os tratamentos de *A. peregrinum* separadamente, para que os frutos de polinização manual cruzada intraespecíficos pudessem ser incluídos na análise. A análise ANOVA de um fator foi utilizada após a normalidade ter sido verificada para os dados (Lilliefors Probability $p>0,05$), e o teste de Kruskal Wallis após teste negativo para normalidade dos dados (Lilliefors Probability $p<0,05$), realizados no Systat 10.0 (SPSS 2000). Para comparações entre os tratamentos em *A. peregrinum* quanto ao comprimento do fruto utilizou-se ANOVA de um fator com o programa Systat 10.0 (SPSS 2000), e quanto à porcentagem de sementes com embrião (os dados de porcentagem não foram transformados) utilizou-se o teste de Kruskal Wallis e o teste de Dunn para comparações *a posteriori* através do programa BioEstat (Ayres *et al.* 2007).

Resultados

Biologia floral - Nas populações e anos estudados a floração de *Adenocalymma peregrinum* foi observada entre os meses de dezembro e abril, enquanto a de *A. campicola* ocorre mais tardiamente, de março a junho, enquadrando-se no padrão fenológico "*steady state*" (Gentry 1974). A sobreposição entre a floração destas espécies no CCPIU foi observada principalmente nos anos de 2007 e 2008. A biologia floral das duas espécies é muito semelhante, com a flor estando totalmente aberta (Figuras 1C, D, 2C, E), com estigma receptivo, elevada produção de odor e néctar quando o dia ficou mais quente, entre 9:00 e

10:00h da manhã (Tabela 1). A antese durou cerca de 24 horas, quando as flores começaram a murchar e perder o odor e a coloração (Tabela 1), embora muitas corolas tenham caído antes de estarem murchas.

Das 36 flores analisadas de *A. peregrinum*, 12 não apresentavam néctar e não foram incluídas nas análises, o que fez com que apenas uma flor estivesse disponível no terceiro intervalo do dia, impossibilitando que este fosse incluído nas análises estatísticas. O volume de néctar não diferiu entre as espécies e entre os dois primeiros intervalos do dia (espécie: $F_{1,21}$=3,971, p=0,059; intervalos: $F_{1,21}$=1,190, p=0,288; espécie x intervalos: $F_{1,21}$=2,412, p=0,135). Já a concentração do néctar foi superior em *A. campicola*, e foi maior no segundo que no primeiro intervalo do dia de acordo com o teste de Tukey (espécie: $F_{1,21}$=16,149, p<0,001; intervalos: $F_{1,21}$=9,696, p=0,005; espécie x intervalos: $F_{1,21}$=2,060, p=0,166). Mesmo analisando-se apenas as flores que apresentaram néctar, o desvio padrão foi muito superior em *A. peregrinum* (volume - 1º intervalo: 19,09±10,04; 2º intervalo: 19,58±12,16; concentração - 1º intervalo: 8,83±5,37; 2º intervalo: 17,42±6,28) que em *A. campicola* (volume - 1º intervalo: 6,68±2,98; 2º intervalo: 17,37±4,76; concentração - 1º intervalo: 19,83±2,30; 2º intervalo: 20,30±2,54).

Visitantes florais - Adenocalymma peregrinum na Fazenda Campo Alegre apresentou mais que o dobro da frequência de visitação por abelhas que *A. campicola* no CCPIU (Tabelas 2 e 3). A frequência de visitação por abelhas foi mais ou menos constante durante a manhã, caindo no final da tarde para duas espécies (Tabelas 2 e 3). *Trigona spinipes* e *Rhatymus* sp. tiveram mais de um tipo de comportamento, mas para o cálculo de porcentagem de tipos de visitantes apenas o comportamento de pilhador de néctar foi considerado para as duas espécies por ser o comportamento mais frequente.

Os pilhadores tiveram uma elevada frequência de visitação em ambas as espécies, com 63,9% das visitas em *A. campicola* e 77,8% em *A. peregrinum* (Tabelas 2 e 3). Sendo que na primeira espécie o pilhador predominante foi *T. spinipes* (Tabela 2, Figuras 3D-F) e na segunda, *Oxaea flavescens* (Tabela 3, Figura 3G). *Oxaea flavescens* apresenta comportamento territorial, podendo afastar indivíduos da mesma espécie ou de espécies diferentes, enquanto *T. spinipes* parece afastar os demais visitantes florais devido ao número de indivíduos elevado observado numa mesma planta (Figura 3D). Polinizadores ocasionais são mais frequentes em *A. campicola*, com 18,8% das visitas (Tabela 2), onde se destacam *Exomalopsis fulvofasciata* (Figura 3C), *Apis mellifera* (Figura 3B) e *Ceratina* (*Crewella*) sp., enquanto em *A. peregrinum* constituem apenas 4,3% das visitas (Tabela 3), representados principalmente por *Ceratina* (*Crewella*) sp.. *Trigona spinipes* e *E. fulvofasciata* se destacam por penetrarem o

Tabela 1: Características da biologia floral de *Adenocalymma campicola* e *Adenocalymma peregrinum.*

Característica	***A. campicola***	***A. peregrinum***
Horário de abertura das flores	7:00-10:00h	8:00-10:00h
Produção de odor	9:00h-final da antese	10:00h-final da antese
Produção de néctar	Antes das 7:00-17:00h	Antes das 8:00-17:00h
Receptividade estigmática	durante toda a antese	durante toda a antese
Escurecimento das anteras	a partir de 14:00h	a partir de 13:30h
Duração da antese	cerca de 24 horas	cerca de 24 horas
Viabilidade polínica (%)	95,5% (± 2,9)	77,8% (± 6,7)
Nº médio grãos de pólen/flor (± DP)	41750 (±29896,5)	64666 (±13185,9)
Nº médio óvulos/ovário (± DP)	10,0 (± 3,4)	14,1 (± 2,5)
Razão pólen/óvulo	4175,0	4599,3

Tabela 2: Frequência de visitação por abelhas às flores de *Adenocalymma campicola* em área de campo sujo no Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, Uberlândia, MG, no ano de 2006. PE=polinizador efetivo; PI=pilhador de néctar; PO=polinizador ocasional.

Espécie		**Comportamento**	**Nº de visitas por hora em diferentes intervalos do dia (nº total de visitas)**				**Total (total 29h 15min)**
			8:00-11:00h (total 5h 45min)	11:00-13:00h (total 8h)	13:00-15:00h (total 9h 35min)	15:00-17:00h (total 5h 55min)	
Andrenidae							
	Oxaea flavescens Klug,1807	PI	2,26 (13)	4,63 (37)	4,70 (45)	1,52 (9)	**3,56 (104)**
Apidae							
Apini	*Apis mellifera* Linnaeus 1758	PO	1,91 (11)	1,50 (12)	1,04 (10)	1,35 (8)	**1,40 (41)**
Centridini	*Centris (Centris) aenea* Lepeletier, 1841	PE	0,17 (1)	0 (0)	0,10 (1)	0 (0)	**0,07 (2)**
	Centris (Trachina) fuscata Lepeletier,1841	PE	0,17 (1)	2,25 (18)	2,82 (27)	1,69 (10)	**1,91 (56)**
	Centris (Hemisiella) tarsata Smith, 1874	PE	0 (0)	0,13 (1)	0,94 (9)	0,17 (1)	**0,38 (11)**
	Centris (Heterocentris) analis Fabricius, 1804	PE	0 (0)	0,63 (5)	0 (0)	0 (0)	**0,17 (5)**
	Epicharis (Epicharis) bicolor Smith, 1874	PE	0,87 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,17 (5)**
Emphorini	*Alepidoscelis imitatrix* Schrottky, 1909	PO	0,52 (3)	0 (0)	0 (0)	0,17 (1)	**0,14 (4)**
Ericrocidini	*Mesoplia (Mesoplia) rufipes* Perty, 1833	PE	0 (0)	0,13 (1)	0,31 (3)	0,34 (2)	**0,21 (6)**
	Mesoplia (Eumelissa) frisei Perty, 1833	PE	0 (0)	0 (0)	0,21 (2)	0 (0)	**0,07 (2)**
Euglossini	*Euglossa (Euglossa) cordata* Linnaeus, 1758	PE	0,52 (3)	1,38 (11)	1,15 (11)	1,52 (9)	**1,16 (34)**
	Euglossa (Euglossa) melanotricha Moure, 1967	PE	0,52 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,10 (3)**
	Eulaema (Apeulaema) nigrita Lepeletier, 1841	PE	0 (0)	0,13 (1)	1,15 (11)	0 (0)	**0,41 (12)**
Exomalopsini	*Exomalopsis (Exomalopsis) fulvofasciata* Smith, 1879	PO	2,96 (17)	3,50 (28)	1,04 (10)	0,68 (4)	**2,02 (59)**
Meliponini	*Friseomelitta* sp.	PI	0,17 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,03 (1)**
	Paratrigona lineata Lepeletier, 1836	PO	0 (0)	0,13 (1)	0 (0)	0,34 (2)	**0,10 (3)**
	Trigona spinipes Fabricius, 1793	PO/PI	18,09 (104)	15,38 (123)	12,11 (116)	10,81 (64)	**13,91 (407)**
	Tetragonisca angustula Latreille, 1811	PO	0,17 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,03 (1)**
Tetrapedini	*Paratetrapedia sp.*	PO	0,17 (1)	0,63 (5)	0,42 (4)	0 (0)	**0,34 (10)**
Xylocopini	*Ceratina (Crewella) sp.*	PO	0,52 (3)	2,13 (17)	1,04 (10)	0,34 (2)	**1,09 (32)**
	Xylocopa sp.	PE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,34 (2)	**0,07 (2)**
Halictidae							
	Sp 1	PO	0 (0)	0 (0)	0,10 (1)	0 (0)	**0,03 (1)**
TOTAL			**29,04 (167)**	**32,50 (260)**	**27,14 (260)**	**19,26 (114)**	**27,38 (801)**

Tabela 3: Frequência de visitação por abelhas às flores de *Adenocalymma peregrinum* em área de campo sujo na Fazenda Campo Alegre, Uberlândia, MG, no ano de 2007. PE=polinizador efetivo; PI=pilhador de néctar; PO=polinizador ocasional.

Espécie		**Comportamento**	**Nº de visitas por hora em diferentes intervalos do dia (nº total de visitas)**				**Total (total 20h 19min)**
			8:00-11:00h (total 11h 42min)	11:00-13:00h (total 3h 50min)	13:00-15:00h (total 3h 47min)	15:00-17:00h (total 1h)	
Andrenidae							
	Oxaea flavescens Klug,1807	PI	65,13 (762)	52,48 (201)	35,98 (136)	25,00 (25)	**55,31 (1124)**
Apidae							
Apini	*Apis mellifera* Linnaeus 1758	PO	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,00 (1)	**0,05 (1)**
Centridini	*Epicharis (Epicharis) bicolor* Smith, 1874	PE	0,34 (4)	0,52 (2)	0,26 (1)	1,00 (1)	**0,39 (8)**
	Epicharis (Epicharana) flava Friese, 1900	PE	0,09 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,05 (1)**
	Sp 1	PE	0,17 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,10 (2)**
Euglossini	*Euglossa (Euglossa) melanotricha* Moure, 1967	PE	18,72 (219)	5,74 (22)	6,35 (24)	4,00 (4)	**13,24 (269)**
	Eulaema (Apeulaema) nigrita Lepeletier, 1841	PE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,00 (1)	**0,05 (1)**
	Exarete sp.	PE	0,09 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,05 (1)**
Exomalopsini	*Exomalopsis (Exomalopsis) fulvofasciata* Smith, 1879	PO	0,85 (10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,49 (10)**
Emphorini	*Alepidoscelis imitatrix* Schrottky, 1909	PO	0,26 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,15 (3)**
	sp. 1	PE	0,26 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,15 (3)**
Meliponini	*Trigona spinipes* Fabricius, 1793	PI/PO	6,67 (78)	3,13 (12)	1,32 (5)	0 (0)	**4,68 (95)**
Xylocopini	*Ceratina (Crewella)* sp.	PO	3,08 (36)	0,52 (2)	0,79 (3)	0 (0)	**2,02 (41)**
	Xylocopa sp.	PI	0 (0)	0 (0)	0,26 (1)	0 (0)	**0,05 (1)**
Rhathymini	*Rhatymus* sp.	PE/PI	1,79 (21)	0 (0)	0,79 (3)	1,00 (1)	**1,23 (25)**
Halictidae							
	sp. 1	PO	0 (0)	0 (0)	0,26 (1)	0 (0)	**0,05 (1)**
	sp. 2	PO	0 (0)	0,26 (1)	0 (0)	0 (0)	**0,05 (1)**
	sp. 3	PO	0,77 (9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,44 (9)**
TOTAL			**98,20 (1149)**	**62,66 (240)**	**46,03 (174)**	**33 (33)**	**78,54 (1596)**

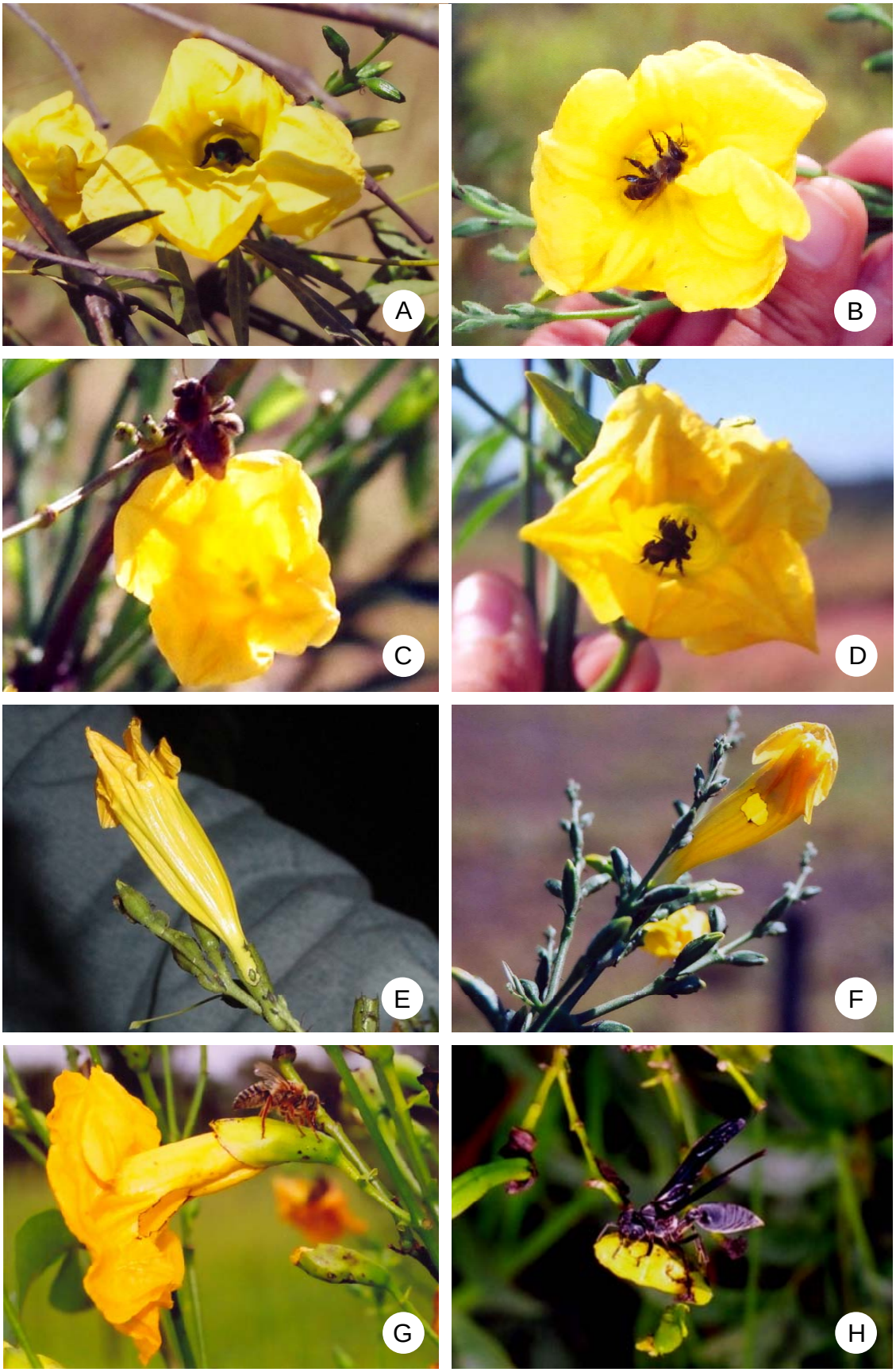

Figura 3. Visitantes florais. A-F. *Adenocalymma campicola*. G, H. *Adenocalymma peregrinum*. A. *Euglossa cordata* realizando visita legítima. B. *Apis mellifera* pilhando pólen. C. *Exomalopsis fulvofasciata* saindo de uma flor que ainda não está totalmente aberta. D. Dois indivíduos de *Trigona spinipes* pilhando pólen. E, F. Botões em pré-antese já danificados por *T. spinipes*. E. Cálice e base da corola perfurados. F. Região mediana da corola perfurada. G. *Oxaea flavescens* pilhando néctar. H. Vespa predando larva em botão floral.

botão em pré-antese para a coleta de pólen, embora *E. fulvofasciata* não danifique o botão como *T. spinipes* (Figura 3F). Estas abelhas podem tornar o pólen escasso nos demais intervalos do dia, além de poderem realizar autopolinizações antes mesmo que a corola esteja totalmente aberta, já que o estigma já se encontra parcialmente aberto no botão em pré-antese.

A frequência visitação por polinizadores efetivos é semelhante entre as duas espécies, com 17,2% das visitas em *A. campicola* e 17,7% das visitas em *A. peregrinum* (Tabelas 2 e 3). Em *A. campicola* os polinizadores efetivos mais frequentes foram *Centris fuscata* e *Euglossa cordata*, enquanto em *A. peregrinum* foram *Euglossa melanotricha* e *Epicharis bicolor*, respectivamente. Embora *E. cordata* e *E. melanotricha* (com cerca de 0,4cm de altura) tenham realizado um elevado número de visitas, a ampla abertura da corola das espécies de plantas estudadas, com 0,57±0,11cm de altura em *A. campicola* (n=7) e com 0,82±0,17cm de altura em *A. peregrinum* (n=28), parecem dificultar o contato dessas abelhas com o estigma (Figura 3A). É provável que quando essas abelhas pousem nos lobos para depois penetrarem no tubo da corola, o contato com o estigma não ocorra, mas que quando elas entrem voando até o fim do tubo da corola, o contato seja possível. Isso tornaria *E. cordata* e *E. melanotricha* polinizadoras ocasionais em *A. campicola* e *A. peregrinum*, embora estas realizem preferencialmente polinizações cruzadas devido à maior movimentação entre as plantas, enquanto os demais polinizadores ocasionais geralmente realizem autopolinizações por permanecerem muito tempo na mesma planta. Nesse contexto, as Centridini parecem ser mais eficientes na realização das polinizações cruzadas que as Euglossini.

Outros visitantes florais diferentes de abelhas também foram observados. Borboletas realizam visitas legítimas às flores de ambas as espécies, podendo realizar polinizações ocasionais com a probóscide. Um beija-flor foi observado pilhando néctar em *A. campicola*. Vespas também foram observadas em botões florais de *A. peregrinum*, predando larvas que se desenvolviam internamente nos botões florais (Figura 3H).

Sistema reprodutivo - A viabilidade polínica foi alta tanto para *Adenocalymma campicola* como para *A. peregrinum*, embora os grãos de pólen tenham tido, em média, cerca de 20% mais viabilidade na primeira espécie (Tabela 1). A razão pólen/óvulo (Tabela 1) indicou xenogamia obrigatória para as duas espécies (Cruden 1977), correspondendo ao encontrado nos experimentos de polinização experimental (Tabela 4). Embora um fruto resultante de autopolinização espontânea tenha se desenvolvido em *A. campicola* e dois de autopolinização manual em *A. peregrinum* (Tabela 4), o ISI foi de 0,028 para *A. campicola* e de 0,037 para *A. peregrinum*, ambos bem menores que 0,25, considerado o maior índice para definir uma espécie como autoincompatível (Bawa 1974). Um fruto proveniente de

Tabela 4: Polinizações experimentais e desenvolvimento de frutos em diferentes anos na população de *Adenocalymma campicola* localizada no Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, Uberlândia, MG, e nas populações de *Adenocalymma peregrinum* localizadas na Fazenda Campo Alegre e no Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), Uberlândia, MG.

População	***Adenocalymma campicola* (CCPIU)**		***Adenocalymma peregrinum***					
			Fazenda Campo Alegre		**CCPIU**		**Total**	
Polinizações experimentais	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**
Autopolinização manual	95	0 (0%)	61	0 (0%)	142	2 (1,41%)	203	2 (0,98%)
Polinização manual cruzada	89	35 (39%)	59	8 (13,56%)	205	62 (30,24%)	264	70 (26,51%)
Autopolinização espontânea	92	1 (1,09%)	64	0 (0%)	41	0 (0%)	105	0 (0%)
Flores emasculadas	84	0 (0%)	73	0 (0%)	40	0 (0%)	113	0 (0%)
Polinização natural	81	5 (6%)	62	0 (0%)	77	2 (2,60%)	139	2 (1,44%)
Cruzamentos interespecíficos	114	40 (35,09%)	-	-	63	24 (38,09%)	63	24 (38,09%)

Tabela 5: Comprimento dos frutos, número de sementes por fruto, porcentagem de óvulos convertidos em sementes e porcentagem média de sementes com embrião em frutos desenvolvidos de polinizações experimentais e naturais em *Adenocalymma campicola* e *Adenocalymma peregrinum.*

Tratamento	***A. campicola***				***A. peregrinum***			
	Comprimento médio do fruto/cm ± DP (n)	**Nº médio de sementes por fruto ± DP (n)**	**% de óvulos convertidos em sementes**	**% média de sementes com embrião± DP (n)**	**Comprimento médio do fruto/cm ± DP (n)**	**Nº médio de sementes por fruto ± DP (n)**	**% de óvulos convertidos em sementes**	**% média de sementes com embrião± DP (n)**
Polinização manual cruzada interespecífica	16,86 ±4,55 (39)	7,68 ±2,94 (40)	76,8%	75,42 ±29,45 (31)	15,17 ±5,73 (19)	7,20 ±3,78 (20)	51,21%	58,56±40,02 (11)
Polinização manual cruzada intraespecífica	-	8,00 ±2,12 (26)	80%	-	16,56 ±5,48 (53)	6,70 ±3,67 (53)	47,65%	81,16 ±26,37 (42)
Polinização natural	17,94 ±5,35 (18)	6,27 ±2,96 (49)	67,7%	63,29 ±29,54 (8)	15,62 ±4,20 (35)	7,95 ±2,72 (63)	56,54%	68,74±27,65 (23)
Autopolinização manual	-	-		-	12,50 (1)	6,00 (1)	42,67%	0,00 (1)

autopolinização manual em *A. peregrinum* que foi avaliado quanto à presença de embriões em suas sementes não apresentou nenhuma semente com embrião desenvolvido (Tabela 5).

A análise de crescimento *in situ* de tubos polínicos revelou que os mesmos atingiram o ovário e iniciaram a penetração dos óvulos 24 horas após a polinização em cerca de 50% dos pistilos analisados provenientes tanto de autopolinizações como de polinizações cruzadas em *A. campicola*, e em cerca de 40% dos pistilos em ambos os tratamentos em *A. peregrinum*. Nos intervalos subsequentes, de 48 e 72 horas após a polinização, os grãos de pólen tinham germinado em 100% dos pistilos analisados, e os tubos polínicos atingiram os ovários e penetraram os óvulos em 60 a 100% dos pistilos analisados de *A. campicola* (Figuras 4A, B) e em 30 a 100% dos analisados em *A. peregrinum*. Em *A. peregrinum* apenas 40% dos pistilos analisados provenientes de autopolinização tiveram os tubos polínicos atingindo os ovários e penetrando os óvulos, independente do intervalo de análise após a polinização, enquanto em *A. campicola* foram observados até 100% dos pistilos autopolinizados com óvulos penetrados nos dois últimos intervalos de análise.

Em *A. campicola* um acréscimo na altura média dos ovários é detectado em autopolinizações e polinizações cruzadas entre os intervalos de 48 e 120 horas após a polinização, não aumentando em pistilos não polinizados (teste de Tukey, $p<0,05$). A altura de ovários submetidos à polinizações cruzadas mostrou-se superior àquela de pistilos não polinizados no intervalo de 120 horas (teste de Tukey, $p<0,05$) (tratamento: $F_{2,80}=0,558$, $p=0,574$; intervalo: $F_{4,80}=13,397$, $p<0,001$; tratamento x intervalo: $F_{8,80}=2,473$, $p=0,019$). A largura dos ovários provenientes de autopolinizações e polinizações cruzadas aumenta de 24 para 120 horas, enquanto em pistilos não polinizados ocorre uma diminuição na largura dos ovários de 48 para 120horas (teste de Tukey, $p<0,05$). A largura de ovários de pistilos não polinizados mostrou-se inferior à de pistilos polinizados no intervalo de 120 horas (tratamento: $F_{2,79}=1,551$, $p=0,218$; intervalo: $F_{4,79}=7,334$, $p<0,001$; tratamento x intervalo: $F_{8,79}=4,942$, $p<0,001$ (Teste de Tukey, $p<0,05$).

Em *A. peregrinum* um acréscimo na altura média dos ovários é detectado em autopolinizações e polinizações cruzadas entre os intervalos de 24 para 48 horas, diminuindo de 96 para 120 horas em pistilos não polinizados (teste de Tukey, $p<0,05$); a altura de ovários de pistilos polinizados mostrou-se superior à de pistilos não polinizados no intervalo de 120 horas (teste de Tukey $p<0,05$) (tratamento: $F_{2,63}=2,353$, $p=0,103$; intervalo: $F_{4,63}=15,777$, $p<0,001$; tratamento x intervalo: $F_{8,63}=10,277$, $p<0,001$). A largura aumenta em pistilos polinizados de 24 para 48 horas, diminuindo de 24 para 120 horas em pistilos não polinizados (teste de Tukey, $p<0,05$); a largura de ovários de provenientes de polinizações

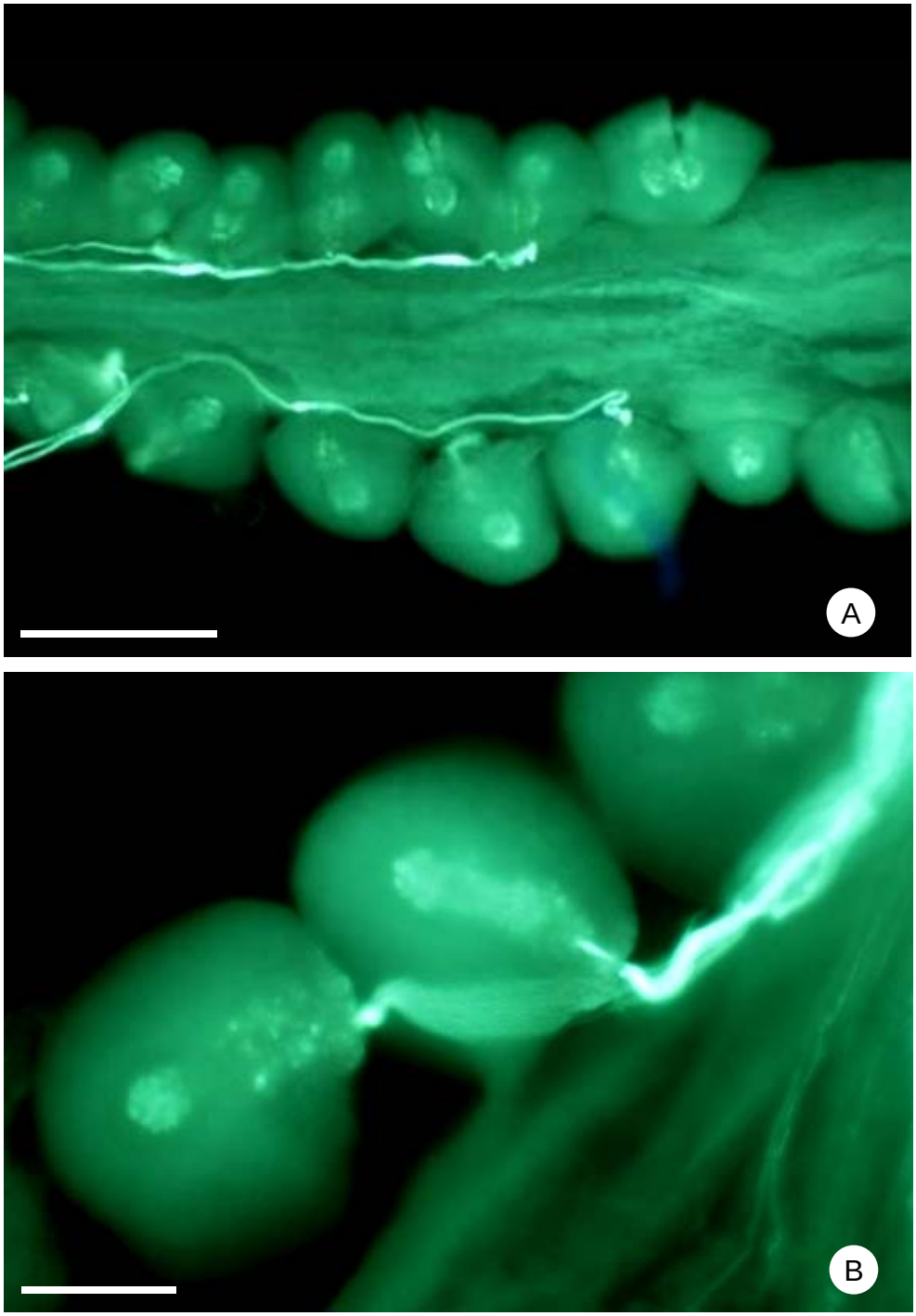

Figura 4. Crescimento de tubo polínico em *Adenocalymma campicola* sob microscopia de fluorescência. A. Óvulos de pistilos de polinização manual cruzada intraespecífica sendo penetrados pelos tubos polínicos 48 horas após a polinização. B. Óvulos de pistilos autopolinizados sendo penetrados pelos tubos polínicos 72 horas após a polinização. Barras=0,5mm (A), 0,1mm (B).

cruzadas mostrou-se superior à de pistilos provenientes de autopolinizações e de pistilos não polinizados no intervalo de 120 horas (teste de Tukey, $p<0,05$) (tratamento: $F_{2,63}=1,254$, $p=0,292$; intervalo: $F_{4,63}=28,148$, $p<0,001$; tratamento x intervalo: $F_{8,63}=15,032$, $p<0,001$).

A frutificação natural foi muito baixa nas duas espécies, de 6% e 1,5%, enquanto a frutificação a partir de pistilos provenientes de polinizações manuais cruzadas intraespecíficas foi elevada, de 39% e 26% em *A. campicola* e *A. peregrinum*, respectivamente (Tabela 4). Esses valores representam uma baixa eficácia reprodutiva, de 0,15 em *A. campicola* e de 0,05 em *A. peregrinum*. As polinizações interespecíficas tiveram uma elevada frutificação em ambos os casos, superando o desenvolvimento de frutos em polinizações manuais cruzadas intraespecíficas em *A. peregrinum* (Tabela 4).

O comprimento médio dos frutos não diferiu entre as espécies ou tratamentos (polinização cruzada interespecífica e polinização natural) (espécie: $F_{1,107}=3,651$, $p=0,059$; tratamento: $F_{1,107}=0,012$, $p=0,912$; espécie x tratamento: $F_{1,107}=0,720$, $p=0,398$), e nem entre os tratamentos de *A. peregrinum* (polinização natural, polinização cruzada interespecífica e intraespecífica) ($F_{2,104}=0,656$, $p=0,521$) (Tabela 5). O número médio de sementes por fruto em condições naturais foi maior em *A. peregrinum* que em *A. campicola* (Tabela 5), e em *A. campicola* os frutos desenvolvidos de polinizações manuais cruzadas apresentaram mais sementes que os de polinização natural (Tabela 5) (teste de Tukey, $p<0,05$) (espécie: $F_{1,107}=0,279$, $p=0,598$; tratamento: $F_{1,107}=0,298$, $p=0,743$; espécie x tratamento: $F_{1,107}=5,770$, $p=0,004$). Não houve diferença entre a porcentagem de sementes com embrião entre as espécies e tratamentos (polinização cruzada interespecífica e polinização natural), que variou de 58,6% a 75,4% (espécie: $F_{1,69}=1,081$, $p=0,302$; tratamento: $F_{1,69}=0,255$, $p=0,615$; espécie x tratamento: $F_{1,69}=1,557$, $p=0,216$), mas a porcentagem de sementes com embrião foi maior em polinizações cruzadas que em polinizações naturais em *A. peregrinum* ($H=7,875$, $p=0,019$) (Tabela 5). A conversão de óvulos em sementes nos frutos de polinização cruzada intra e interespecífica foi superior em *A. campicola* que em *A. peregrinum*, mas foi similar entre as espécies em frutos que se desenvolveram naturalmente (Tabela 5).

A germinação de sementes cessou 40 dias após a embebição para todos os tratamentos. Das sementes coletadas em frutos desenvolvidos naturalmente no CCPIU, 73,0% (n=37) das de *A. campicola* e 68,1% (n=47) das de *A. peregrinum* germinaram. Das sementes desenvolvidas a partir de frutos provenientes de polinizações manuais interespecíficas, 88,5% (n=87) das que se desenvolveram em *A. campicola* com pólen de *A. peregrinum* germinaram e 88,3% (n= 48) das que se desenvolveram em *A. peregrinum* com pólen de *A. campicola* germinaram. Sessenta e seis dias após as plântulas terem sido transferidas para substrato em

casa de vegetação, elas já apresentavam um ou dois pares de neófilos, nos quais foi verificada uma grande variabilidade morfológica dentro de cada tratamento (Figuras 5, 6).

Embora a variabilidade morfológica seja grande, puderam ser percebidas algumas particularidades dentro dos tratamentos. As plântulas de sementes desenvolvidas naturalmente em *A. campicola* apresentam folhas tri ou pentafolioladas (Figuras 5A-F), podendo ocorrer uma combinação das duas (Figura 5C, F) com folíolos variando de lanceolados (Figuras 5A-D) a trulados (Figuras 5E, F). Enquanto em *A. peregrinum*, além de folhas trifolioladas (Figuras 5H-K), ocorreram folhas simples (Figura 5G), e uma combinação de folhas tri e pentafolioladas (Figura 5L), com folíolos variando de ovados (Figura 5G), elípticos (Figuras 5J-L) a largo-elípticos (Figuras 5H, I). As plântulas oriundas de sementes desenvolvidas em *A. campicola* com pólen de *A. peregrinum* são tri, tetra, pentafolioladas ou uma combinação desses tipos, e os folíolos foram predominantemente lanceolados (Figura 6C-E, I) ou elípticos (Figuras 6A, B, F-H). Uma plântula com filotaxia verticilada também foi registrada (Figura 6D). As plântulas oriundas de sementes desenvolvidas em *A. peregrinum* com pólen de *A. campicola* apresentaram folhas simples (Figura 6J), trifolioladas (Figuras 6K-O), uma combinação de folhas simples e trifolioladas (Figura 6P), e uma combinação de folhas tri, tetra e pentafolioladas (Figura 6Q, R), com folíolos variando de ovados (Figura 6J, P), elípticos (Figuras 6K-N, P-R) a lanceolados (Figura 6O). Em todos os casos ocorreram plântulas deficientes em clorofila (Figura 5F, L, 6D, L, N).

A análise do numero cromossômico das células dos ápices radiculares das plântulas desenvolvidas naturalmente em ambas as espécies e das plântulas híbridas revelaram que todas possuem 2n=40 (n=20 células para cada tratamento) (Figura 7).

Discussão

Os experimentos de polinizações controladas, a razão pólen/óvulo e o ISI indicaram que *Adenocalymma campicola* e *A. peregrinum* são autoestéreis. O crescimento dos tubos polínicos, a penetração de óvulos e o aumento em altura e largura dos ovários em pistilos autopolinizados com sua posterior abscisão, podem indicar que a autoesterilidade nessas espécies possa estar relacionada à presença de um sistema de autoincompatibilidade de ação tardia, LSI (Seavey & Bawa 1986, Sage *et al.* 1994), como descrito para outras Bignoniaceae (Amaral 1992, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003). A maior porcentagem de pistilos com óvulos penetrados por tubos polínicos e a maior largura dos ovários em pistilos provenientes de polinizações cruzadas em *A. peregrinum* podem indicar que um

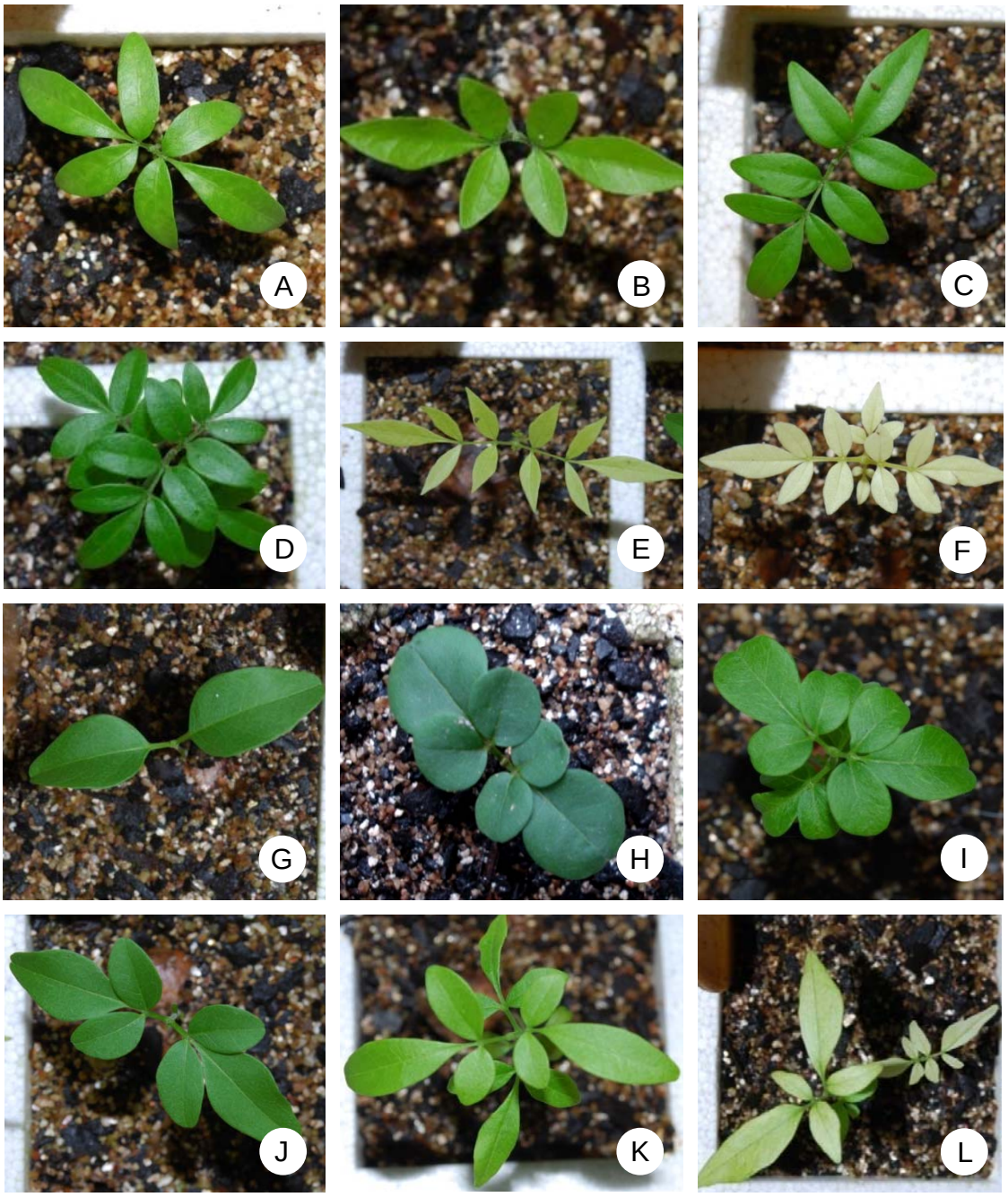

Figura 5. Plântulas provenientes de sementes de frutos desenvolvidos naturalmente. A-F. *Adenocalymma campicola*. G-L. *Adenocalymma peregrinum*.

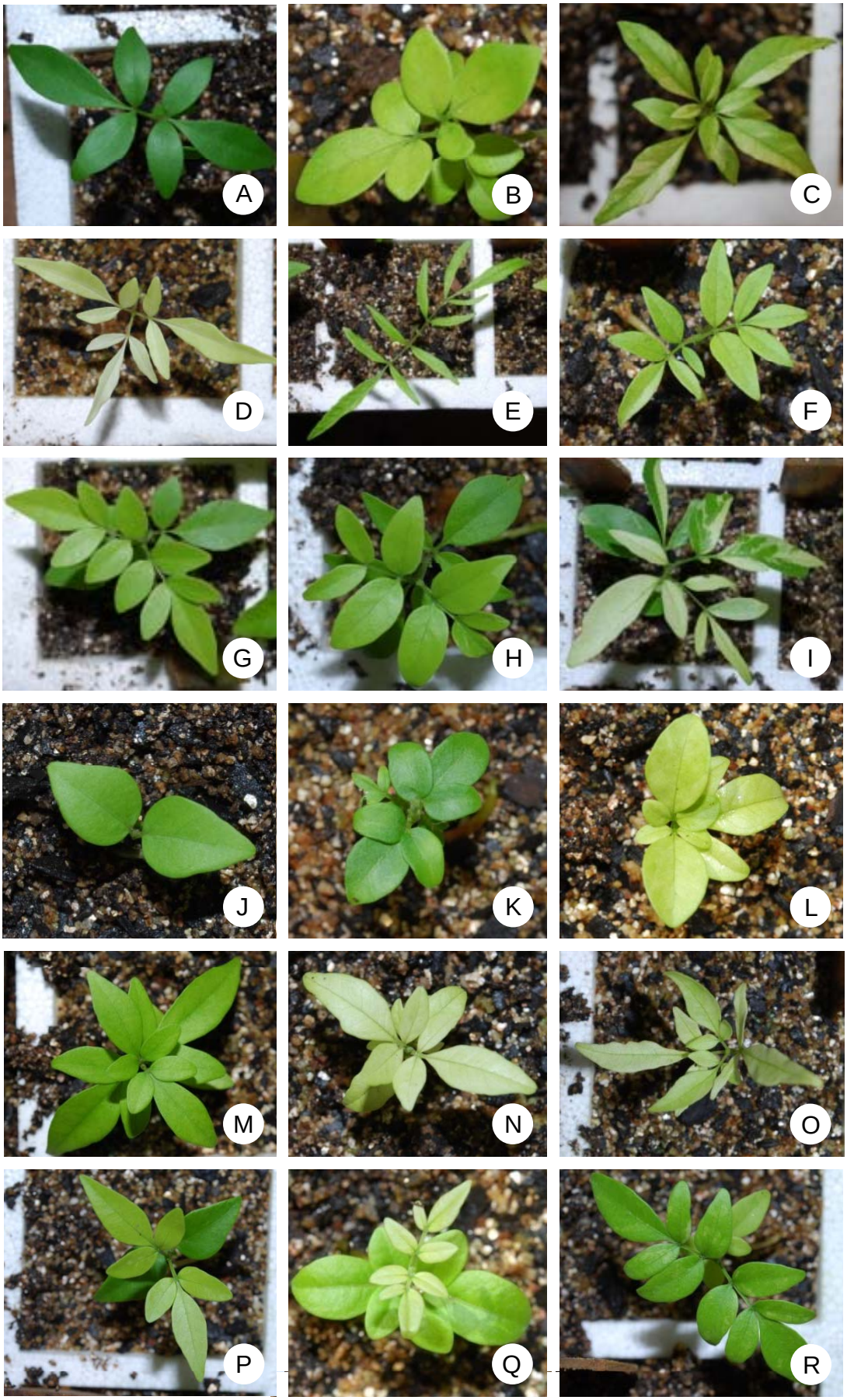

Figura 6. Plântulas provenientes de sementes de frutos desenvolvidos a partir de polinizações cruzadas interespecíficas. A-I. Frutos desenvolvidos em *Adenocalymma campicola* com pólen de *A. peregrinum*. J-R. Frutos desenvolvidos em *A. peregrinum* com pólen de *A. campicola*.

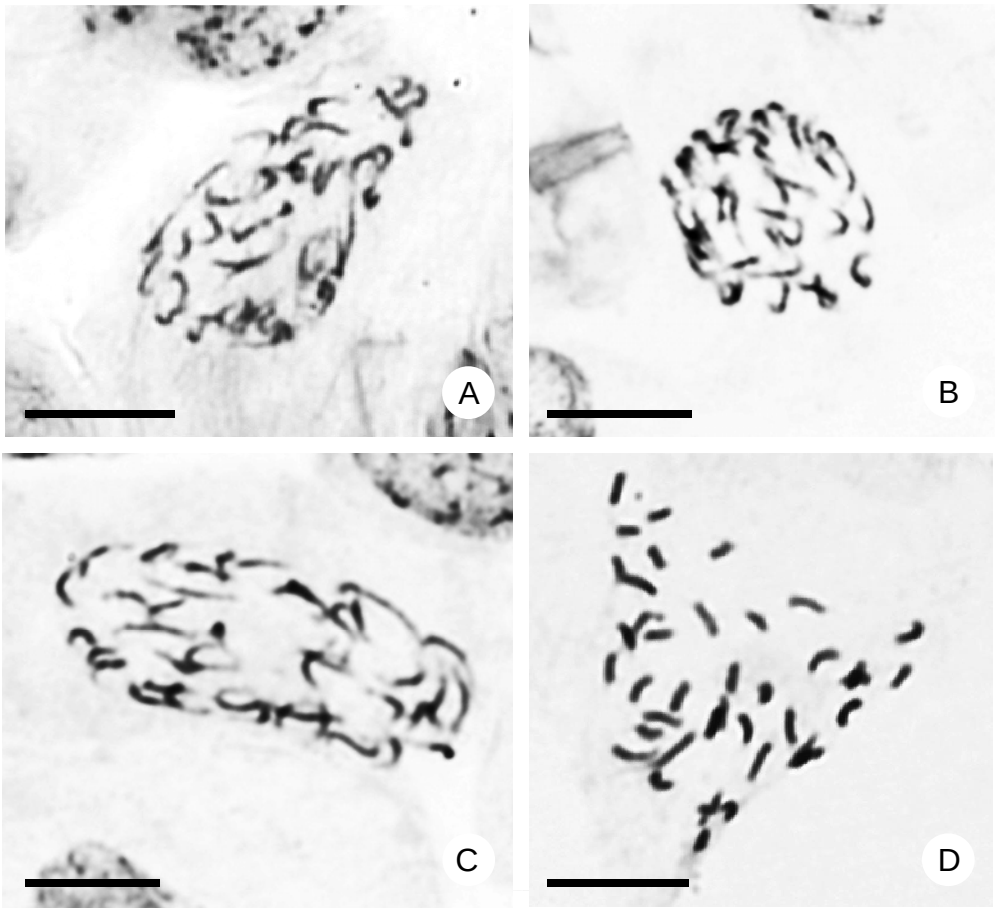

Figura 7. Células em metáfase mitótica extraídas de ápices radiculares de plântulas. A. *Adenocalymma campicola*, semente coletada de frutos desenvolvidos naturalmente, 2n=40. B. *Adenocalymma peregrinum*, semente coletada de frutos desenvolvidos naturalmente, 2n=40. C. Semente de polinização manual interespecífica desenvolvida em *A. campicola*, 2n=40. D. Semente de polinização manual interespecífica desenvolvida em *A. peregrinum*, 2n=40. Todas as sementes foram coletadas no CCPIU, Uberlândia, MG. Barras=10µm.

sistema de autoincompatibilidade já estivesse agindo sobre o crescimento dos tubos polínicos e sobre o desenvolvimento do ovário nos primeiros intervalos após a fecundação, como observado para outras Bignoniaceae (Bittencourt Júnior 2003). A constância desse comportamento entre as espécies da família é um indicativo da presença de um sistema de autoincompatibilidade controlado geneticamente (Amaral 1992, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003).

O estudo da biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes numa mesma comunidade mostrou que, mesmo quando as espécies florescem na mesma época, elas apresentam visitantes florais distintos, com pouca ou nenhuma sobreposição (Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Zjhra 2008). A enorme semelhança na morfologia floral de *A. campicola* e *A. peregrinum*, e o fato da sobreposição na floração dessas espécies ocorrer no final da floração de *A. peregrinum* e no início da de *A. campicola* pode fazer com que elas possuam a mesma guilda de abelhas como visitantes florais e polinizadores, o que pode ser estimulado pelo reduzido número de flores neste período forçando as abelhas a visitar as flores das duas espécies.

Embora as espécies de Centridini e Euglossini tenham variado um pouco entre *A. campicola* e *A. peregrinum*, é possível que esta variação esteja relacionada às diferenças nas áreas e no período de observação para cada espécie. As abelhas da tribo Centridini parecem ser as principais polinizadoras das flores de *A. campicola* e *A. peregrinum*, bem como verificado para *Adenocalymma bracteatum* (Cham.) DC. (Amaral 1992). As abelhas do gênero *Xylocopa*, que são frequentemente relatadas como pilhadoras de néctar em espécies de Bignoniaceae com flores do tipo *Anemopaegma* (Amaral 1992, Vieira *et al.* 1992, Dutra & Machado 2001, Correia *et al.* 2005, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), também agem como polinizadoras efetivas de *Adenocalymma*, como observado em *A. campicola* no presente estudo e em *A. marginatum* (Cham.) DC. (Amaral 1992), provavelmente devido ao maior diâmetro da abertura do tubo da corola dessas espécies em relação a outros gêneros (Amaral 1992).

A predominância de visitas por abelhas pilhadoras de néctar em ambas as espécies deve diminuir bastante o volume de néctar disponível aos polinizadores e pode fazê-los permanecer menos tempo em cada flor (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), tendo de visitar um maior número de flores (Maloof 2001), e favorecendo a ocorrência de polinizações cruzadas. Por outro lado, os pilhadores de pólen parecem reduzir muito a disponibilidade desse recurso logo no início da manhã, podendo torná-lo escasso para a realização de

polinizações cruzadas (Vieira *et al.* 1992, Guimarães *et al.* 2008). Além disso, eles parecem ser mais propensos a realizar autopolinizações (Guimarães *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). A ação dos pilhadores de pólen poderia justificar, pelo menos em parte, a baixa conversão de flores em frutos em condições naturais, principalmente em *A. campicola*, onde as visitas realizadas por estas abelhas são mais frequentes (incluindo *Trigona spinipes* que também é considerada pilhadora de néctar). A baixa conversão de flores em frutos em condições naturais também pode ocorrer devido à predação de ovários ou frutos jovens nas duas espécies, o que também foi relatado para *Anemopaegma laeve* DC. (Carvalho *et al.* 2007) e *Jacaranda rugosa* A. H. Gentry (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). A maior predação de frutos e sementes em *A. peregrinum* pode ainda estar relacionada à ausência de nectários extraflorais no cálice e no fruto, os quais atraem formigas que podem auxiliar na proteção contra os herbívoros (Amaral 1992).

A produção de néctar parece ser mais regular entre as flores de *A. campicola* que entre as de *A. peregrinum*, apresentando um acréscimo constante no volume de néctar, que permite visitações ao longo de toda a antese, como observado para outras Bignoniaceae com flores de curta duração (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009, Capítulos 5 e 6). Já em *A. peregrinum*, várias flores não produziram néctar, e as que produziram apresentaram grande variabilidade no volume e concentração. O motivo pelo qual tantas flores de *A. peregrinum* não apresentaram néctar é desconhecido. Embora botões florais jovens possam ter sido parasitados ou predados antes de terem sido ensacados, podendo impedir a abertura do botão ou ter danificado o nectário, é possível que algumas flores de *A. peregrinum* não produzam néctar, o que poderá ser confirmado isolando-se os botões ainda muito jovens da possibilidade de serem predados. Tal irregularidade na produção de néctar pode funcionar como o efeito dos pilhadores de néctar, obrigando as abelhas a visitar um maior número de flores. Como as plantas das duas espécies apresentam sobreposição parcial no período de floração, a baixa disponibilidade de néctar ainda pode estimular a inclusão de ambas nas rotas de forrageamento e aumentar o fluxo de pólen interespecífico.

O número médio de sementes por fruto foi maior em *A. peregrinum*, provavelmente por esta espécie possuir um maior número médio de óvulos por ovário que *A. campicola*. O maior número de sementes por fruto em polinizações cruzadas que em polinizações naturais em *A. campicola* demonstra que as polinizações manuais cruzadas podem ser quantitativamente e qualitativamente mais eficientes que as naturais. As polinizações naturais realizadas por polinizadores ocasionais podem acarretar um número muito reduzido de grãos de pólen no estigma, além de polinizações naturais poderem trazer carga polínica contendo

uma mistura de grãos de pólen compatíveis e incompatíveis (Bianchi *et al.* 2005, Bittencourt Júnior & Semir 2006).

A produção de frutos em experimentos de polinização interespecífica evidenciou uma compatibilidade bilateral entre estas espécies e a inexistência de barreias genéticas que impeçam o cruzamento entre *A. campicola* e *A. peregrinum*. Uma grande proximidade filogenética entre estas espécies deve existir para que a biologia reprodutiva seja semelhante e a compatibilidade interespecífica viável (Gentry 1990, Wendt *et al.* 2001, Judd *et al.* 2008, Melo 2008). A análise de plântulas desenvolvidas naturalmente permitiu distinguir morfologicamente as plântulas das duas espécies, principalmente devido ao número e formato de folíolos, embora a ocorrência de morfologia intermediária entre as espécies indique que hibridações naturais possam ocorrer nas populações. A possibilidade de ocorrência de hibridações naturais entre *A. campicola* e *A. peregrinum* pode se estender além da área estudada no município de Uberlândia para os estados de Goiás, Mato Grosso e Minas Gerais, onde elas coocorrem (Lohmann, no prelo). A sobreposição nas áreas de ocorrência dessas espécies pode ter sido provocada pela implementação de amplas áreas de pastagens, que teriam eliminado fitofisionomias mais fechadas que restringem a ocorrência dessas espécies (Soares *et al.* 2006), permitindo que elas expandissem suas áreas de ocorrência. A sobreposição nos períodos de floração, por sua vez, pode ocorrer devido ao processo de rebrotamento a partir de órgãos subterrâneos que estimula uma floração maciça logo que a parte vegetativa esteja bem estabelecida, como relatado para outras espécies subarbustivas de Cerrado (Hoffmann & Moreira 2002). Como o ambiente de pastagem frequentemente elimina a parte a aérea das plantas pelo pastoreio ou manejo, o rebrotamento das plantas perenes é estimulado e este é seguido pela floração.

Os híbridos podem ser mantidos e estabelecidos na comunidade através da reprodução vegetativa (Ellstrand *et al.* 1996, Ellstrand & Schierenbeck 2000, Wendt *et al* 2001), que no caso de *A. campicola* e *A. peregrinum* consiste no rebrotamento vigoroso a partir do sistema subterrâneo que é observado após os eventos de fogo ou poda (Marchetti 2006). Embora os cruzamentos interespecíficos possam ser realizados com sucesso e produzam plântulas viáveis que podem se estabelecer na comunidade, ainda não se sabe se os indivíduos híbridos seriam férteis e se o estabelecimento de uma nova linhagem seria possível. As irregularidades meióticas observadas nas anteras de alguns indivíduos da população de *A. peregrinum* do CCPIU (J. Yamagishi-Costa, dados não publicados), indicam que híbridos estejam presentes na população (Melo 2008, Judd *et al.* 2008) e que poliploidizações seriam possíveis, embora não tenhamos evidências de indivíduos poliplóides na população.

A possibilidade de hibridação, evidenciada pelos cruzamentos interespecíficos e formação de sementes viáveis, contrasta com o conservadorismo de ploidia e ausência de apomixia observado nas espécies estudadas (Capítulo 1). A ideia de que a hibridação poderia ser o motor básico para a diferenciação citológica e estabelecimento de complexos agâmicos (Capítulo 1) não parece ser aplicável a todas as espécies de Bignoniaceae. Caso híbridos naturais estejam estabelecidos nas áreas de estudo de *Adenocalymma*, não existem evidências de que mudanças no sistema reprodutivo estejam associadas a estas plantas, embora este possa ser um processo em curso.

Referências Bibliográficas

Abbot, R. J., James, J. K., Milne, R. I. & Gillies, A. C. M. 2003. Plant introductions, hybridization and gene flow. **Phil. Trans, R. Soc. London** B 338: 1123-1132.

Allen, A. M. & Hiscock, S. J. 2008. Evolution and phylogeny of self-incompatibility systems in angiosperms. In: Franklin-Tong, V. (ed.). p. 73-102. **Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms.** Springer-Verlag, Berlin.

Amaral, M. E. C. 1992. Ecologia floral de dez espécies da tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semi-decídua no município de Campinas, SP. **Tese de Doutorado**, Departamento de Ecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Anderson, E. 1949. **Introgressive hybridization**. John Wiley and Sons, New York.

Arnold, M. L., Bulger, M. R., Burke, J. M., Hempel, A. L. & Williams, J. H. 1999. Natural hybridization: how low can you go and still be important? **Ecology** 80: 371-381.

Ayres, M., Ayres Júnior, M., Ayres, D. L. & Santos, A. A. 2007. **BioEstat: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Bio-Médicas**. Sociedade Civil Mamirauá/CNPQ, Belém.

Bawa, K. S. 1974. Breeding systems of tree species of lowland tropical community. **Evolution** 28: 85-92.

Bianchi, M. B., Harris, S. A., Gibbs, P. E. & Prado, D. E. 2005. A study of the mating system in *Dolichandra cynanchoides* (Bignoniaceae): an Argentinian Chaco woodlands liane with a late-acting self-incompatibility. **Plant Systematics and Evolution** 251:173-181.

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Bittencourt Júnior, N.S. & Semir, J. 2006. Floral biology and late-acting self-incompatibility

in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). **Australian Journal of Botany**, 54:315-324.

Bullock, S. H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. **Biotropica** 17: 287-301.

Carman, J. G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society** 61: 51-94.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörandl, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

COPAM. 1997. **Lista das espécies ameaçadas de extinção da flora do estado de Minas Gerais.** Deliberação COPAM 085/97.

Carvalho, A. T., Santos-Andrade, F. G. & Schlindwein, C. 2007. Baixo sucesso reprodutivo em *Anemopaegma laeve* (Bignoniaceae) no Parque nacional do Catimbau, Pernambuco. **Revista Brasileira de Biociências** 5: 102-104.

Correia, M.C.R., Pinheiro, M.C. & Lima, H.A. 2005. Biologia floral e polinização de *Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart. (Bignoniaceae). **Acta Botânica Brasílica** 19: 501-510.

Costa, M. E., Sampaio, D. S., Paoli, A. A. S. & Leite, S. C. A. L. 2004. Poliembrionia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Cham.) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 395-406.

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

Dafni, A., Kevan, P. G. & Husband, B. C. 2005. **Practical pollination ecology**. Enviroquest, Cambrige.

Ellstrand, N. C. & Schierenbeck, K. A. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? **PNAS** 97:7043-7050.

Ellstrand, N. C., Whitkus, R. & Riseberg, L. H. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 93: 5090-5093.

Dutra, J. C. S. & Machado, V. L. L. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante seu período de floração. **Neotropical Entomology** 30: 43-53.

Ferreira, D. F. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria**. São Carlos: 255-258.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Gentry, A.H. 1974. Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61:728-759.

Gentry, A.H. 1980. Bignoniaceae Part I - Tribes Crescentieae and Tourretieae. **Flora Neotropica** 25: 1-131.

Gentry, A. H. 1990. Evolutionary patterns in neotropical Bignoniaceae. **Memories of the New York Botanical Garden** 55: 118-129.

Gentry, A. H. 1992. Bignoniaceae - Part. II. (Tribe Tecomae). **Flora Neotropica** Monog. 25(II): 1-370.

Gibbs, P. E. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. **Revista Brasileira de Botânica** 13: 125-136.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibily. **Botanica Acta** 106: 64-71.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LST: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. **Annals of Botany** 84: 449-457.

Grassi, R. F., Resende, U. M., Silva, W., Macedo, M. L. R., Butera, A. P., Tulli, E. O., Saffran, F. P. & Siqueira, J. M. 2005. Estudo fitoquímico e avaliação alelopática de *Memora peregrina* – "ciganinha" – Bignoniaceae, uma espécie invasora de pastagens em Mato Grosso do Sul. **Quim. Nova** 28: 199-203.

Grose, S. O. & Olmestad, R. G. 2007. Evolution of a charismatic neotropical clade: molecular phylogeny of *Tabebuia* s.l., Crescentieae, and allied genera (Bignoniaceae). **Systematic Botany** 32: 650-659.

Guerra, M. 1983. O uso do Giemsa em citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandeamento**. Ciência e Cultura** 35: 190-193.

Guimarães, E., Di Stasi, L. C. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2008. Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. **Annals of Botany** 102: 699–711.

Hegarty, M. J. & Hiscock, S. J. 2005. Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies. **New Phytologist** 165: 411-423.

Hoffmann, W. A. & Moreira, A. G. 2002. The role of fire in population dynamics of woody plants. Pages 159-177. In: P. S. Oliveira, R. J. Marquis, eds. **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna**. Columbia University Press, New York.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. & Donoghue, M. J. 2008. **Plant Systematics: a phylogenetic approach.** 3rd ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland.

Kearns, C.A. & Inouye, D.W. 1993. **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado, Niwot.

Lohmann, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignonieae, Bignoniaceae). **American Journal of Botany** 93: 304-318.

Lohmann, L.G. no prelo. A new generic classification of Bignonieae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. **Annals of the Missouri Botanical Garden**.

Maloof, J. E. 2001. The effects of a bumble bee robber on plant reproductive success and pollinator behavior. **American Journal of Botany** 88:1960-1965.

Marchetti, C. R. 2006. Taxa de crescimento e metabolismo nitrogenado de *Memora peregrina* (Miers) Sandwith (Bignoniaceae) - espécie invasora de pastagens. **Dissertação de Mestrado.** Curso de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande, MS.

Martin, F.W. 1959. Staining and observering pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technology** 34: 125-128.

Maués, M. M., Oliveira, P. E. A. M. & Kanashiro, M. 2008. Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the "Floresta Nacional do Tapajós", Central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** 31: 517-527.

McDowell, E. M & Trump, B. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine** 100: 405-414.

Melo, M. C. 2008. Biologia reprodutiva, variabilidade morfológica e micromorfologia floral de quatro espécies de *Acianthera* (Orchidaceae), ocorrentes em campos rupestres. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais.

Milet-Pinheiro, P. & Schlindwein, C. 2009. Pollination in *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae): Euglossine pollinators, nectar robbers and low fruit set. **Plant Biology** 11: 131-141.

Nunes, S. G. 1999. Ciganinha *Memora peregrina* (Miers) Sandw nova planta invasora de pastagem. Embrapa Gado de Corte Divulga/Nº35.

http://www.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD35.html. Acesso em 06/01/2010.

Nunes, S. G. 2001. **Controle de plantas invasoras em pastagens cultivadas nos Cerrados.** Documentos/Embrapa Gado de Corte, ISSN 1517-3747, 117. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande.

Piazzano, M. 1998. Números cromosómicos en Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** 26: 179-189.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 29: 467-501.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 33: 589-639.

Riseberg, L. H. 1995. The role of hybridization in evolution: old wine in new skins. **American Journal of Botany** 82: 944-953.

Riseberg, L. H., Widmer, A., Arntz, A. M. & Burke, J. M. 2003. The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations. **Phil. Trans, R. Soc. London** B 338: 1141-1147.

Ruiz, T. Z. & Arroyo, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary decidual tropical forest. **Biotropica** 10: 221-230.

Sage, T. L., Bertin, R. I. & Williams, E. G. 1994. Ovarian and other late-acting self-incompatibility systems. In: E. G. Williams et al. (eds.), p. 116-140. **Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Seavey, S. R. & Bawa, K. S. 1986. Late-acting self-imcompatibility in angiosperms. **The Botanical Review** 52: 195-219.

Soares, J. J., Souza, M. H. A. O. & Lima, M. I. S. 2006. Twenty years of post-fire plant succession in a “Cerrado”, São Carlos, SP. **Brazilian Journal of Biology** 66(2B): 587-602.

SPSS. 2000. **Systat version 10**. SPSS Inc., San Francisco, Califórnia.

Vieira, M. F., Meira, R. M. S. A., Queiroz, L. P. & Meira Neto, J. A. A. 1992. Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) DC. (Bignoniaceae) em área de Cerrado do Sudeste Brasileiro. **Anais do 8º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo**: 13-19.

Zjhra, M. L. 2008. Facilitating sympatric species coexistence via pollinator partitioning in endemic tropical trees of Madagascar. **Plant Systematics and Evolution** 271: 157–176

Wendt, T., Canela, M. B. F., Faria, A. P. G. & Rios, R. I. 2001. Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany** 88: 1760-1767.

Ynagizawa, Y. A. N. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five Melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50: 1043-1050.

MANUTENÇÃO DO SISTEMA DE AUTOINCOMPATIBILIDADE EM ESPÉCIES SUBARBUSTIVAS DE BIGNONIACEAE DO CERRADO

Resumo

A família Bignoniaceae é constituída predominantemente por espécies arbóreas ou de lianas, com sistema reprodutivo de autoincompatibilidade e número cromossômico diplóide de 2n=36 ou 2n=40. A adaptação de plantas dessa família ao estrato herbáceo-arbustivo do Cerrado poderia estimular a fixação da autofertilidade nestas espécies, a qual é importante para a manutenção da reprodução sexuada neste estrato. A poliploidia, que parece ocorrer preferencialmente nas plantas deste bioma, também parece estar relacionada com a quebra do sistema de autoincompatibilidade. Nosso objetivo foi testar se o sistema reprodutivo de autoincompatibilidade também está presente em espécies subarbustivas da tribo Bignonieae, a qual é constituída tipicamente por lianas. Para isso, estudamos a biologia floral, a biologia da polinização e o sistema reprodutivo de *Cuspidaria sceptrum* e *Fridericia platyphylla*, além de verificar seu número cromossômico. Nossos resultados mostraram que embora componham parte do estrato herbáceo-arbustivo de plantas do Cerrado, predominantemente autofértil, estas espécies mantiveram a necessidade de polinização por animais, principalmente por abelhas da tribo Centridini, e de fecundação cruzada para o desenvolvimento de frutos como as demais espécies arbóreas e de lianas da família. Apesar das diferenças no tamanho e coloração da flor, presença de odor adocicado, volume do néctar, sincronia dos eventos florais, duração da flor e frequência de visitação por abelhas, a frutificação natural nas duas espécies é baixa, variando de 2 a 4%. A baixa frutificação natural pode ocorrer devido à ocorrência de polinizações com grãos de pólen incompatíveis, como no caso das autopolinizações, ou pela presença de herbivoria. A manutenção do sistema de autoincompatibilidade de ação tardia em espécies subarbustivas parece estar relacionada à capacidade dessas plantas conservarem a atratividade para os polinizadores e a capacidade de se manterem no ambiente através do rebrotamento de sistemas subterrâneos. As espécies de Bignoniaceae demonstram-se relativamente conservadoras quanto à sua ploidia e sistema reprodutivo, independente da forma de vida.

Palavras-chave: *Arrabidaea*, estrato vegetacional, forma de vida, ploidia, sistema reprodutivo.

Introdução

Acredita-se que algumas espécies de plantas do Cerrado tiveram origem em espécies correlatas das florestas tropicais úmidas, como, por exemplo, as espécies subarbustivas de *Jacaranda* Juss. que teriam se originado de espécies arbóreas e os subarbustos da tribo Bignonieae que teriam se originado a partir de lianas em Bignoniaceae (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Lohmann 2006, Lohmann, no prelo). Nessa família, o sistema de autoincompatibilidade ocorre em cerca de 80% das espécies investigadas (Capítulo Introdutório), sendo que cerca de 50% das espécies estudadas tiveram a ação de um sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) verificada (Gibbs 1990, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003, Capítulo Introdutório, Capítulo 1). A quebra do sistema de autoincompatibilidade pode ter diferentes causas, como mutações, poliploidizações e pseudogamia associada à apomixia (Richards 1986, Allem 2004, Pannell *et al.* 2004, Barringer 2007, Husband *et al.* 2008). As espécies do estrato herbáceo-arbustivo do Cerrado são predominantemente autoférteis, o que parece estar relacionado à adaptação ao estrato vegetacional e ao bioma que exigem uma renovação constante da parte aérea via sementes ou através do rebrotamento (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008). Algumas espécies do cerrado parecem ser poliplóides em relação às espécies congenéricas de mata, (Morawetz 1986, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006), o que também favoreceria a quebra do sistema de autoincompatibilidade neste bioma.

Os representantes de Bignoniaceae do estrato herbáceo-arbustivo apresentam espécies autoférteis e autoestéreis, embora os principais representantes da família no Cerrado sejam em sua maioria autoincompatíveis (Vieira *et al.* 1992, Gibbs & Bianchi 1993, Barros 2001, Bittencourt Júnior & Semir 2005, 2006, Guimarães *et al.* 2008, Capítulos 1, 4 e 6) e diplóides (Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998, Capítulo Introdutório e Capítulo 1). As espécies subarbustivas de *Jacaranda* são autoincompatíveis (Vieira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Barbosa & Sazima 2008, Guimarães *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), exceto por *J. oxyphylla* que é autofértil (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), enquanto os subarbustos de *Anemopaegma acutifolium* (Firetti 2009, Capítulo 3), *A. arvense*, *A. glaucum*, *A. scabriusculum* (Firetti 2009) e *Fridericia platyphylla* (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), bem como a herbácea *Incarvillea sinensis*, nativa do Himalaia (Qu *et al.* 2007), são autoférteis.

O gênero *Arrabidaea* DC., que também possui representantes subarbustivos do Cerrado, já foi considerado o maior da tribo Bignonieae, mas foi recentemente desmembrado

e suas espécies incluídas em *Cuspidaria* DC., *Fridericia* Mart., *Tanaecium* O. Swartz e *Xylophragma* Sprague (Lohmann, no prelo). A nova circunscrição de *Fridericia* apresenta uma combinação de sistemas reprodutivos, já que foram reportadas espécies autoincompatíveis de lianas (Amaral 1992, Correia *et al.* 2005, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007) e uma autofértil de subarbusto (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007). *Tanaecium* apresenta uma espécie autoincompatível (Amaral 1992), enquanto *Cuspidaria* e *Xylophragma* permanecem desconhecidas quanto ao sistema reprodutivo (Capítulo 1).

O estudo do sistema reprodutivo associado a análises citogenéticas pode ajudar a compreender se o sistema reprodutivo de autoincompatibilidade e o número cromossômico diplóide de 2n=40 (Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998, Capítulo Introdutório e Capítulo 1) são mantidos mesmo quando as espécies estão adaptadas ao estrato herbáceo-arbustivo do Cerrado. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo verificar se a biologia reprodutiva e o número cromossômico de *Cuspidaria sceptrum* (Cham.) L. Lohmann e *Fridericia platyphylla*, espécies subarbustivas típicas do Cerrado, corresponde aos padrões gerais de Bignoniaceae ou apresentam diferentes adaptações que possam estar relacionadas à forma de vida e ao bioma.

Material e Métodos

Espécies estudadas e áreas de estudo - O estudo foi realizado nos meses de março a maio de 2007 em nove indivíduos de *Cuspidaria sceptrum* numa população localizada no Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), MG (18º58’48.5”S e 48º17’45.8”W), numa área de campo sujo. O material testemunho foi depositado no *Herbarium Uberlandense* (HUFU 48836, 48930), Uberlândia, MG. A identificação do material Botânico foi gentilmente confirmada pela especialista Dra. L. G. Lohmann. *Cuspidaria sceptrum* é um subarbusto cespitoso (Figura 1A), as inflorescências são apicais, o cálice é urceolado e cobre toda a porção afunilada da corola, sua consistência é membranácea, a coloração vai de rósea a esbranquiçada, e apresenta nectários e tricomas (Figuras 1A-C). O cálice se rasga após a protrusão da corola, o que dá um aspecto danificado às suas margens (Figura 1C), mas permanece seco envolvendo o fruto durante o desenvolvimento. A corola tem coloração rosa - clara homogênea e apresenta tricomas externa e internamente (Figuras 1C, D). O ovário possui tricomas lepidotos em toda a sua extensão, é séssil e circundado por um disco nectarífero. O fruto é uma cápsula septicida (Figura 1E). Caule, folhas e frutos em desenvolvimento apresentam tricomas glandulares que os tornam pegajosos ao toque. Ocorre

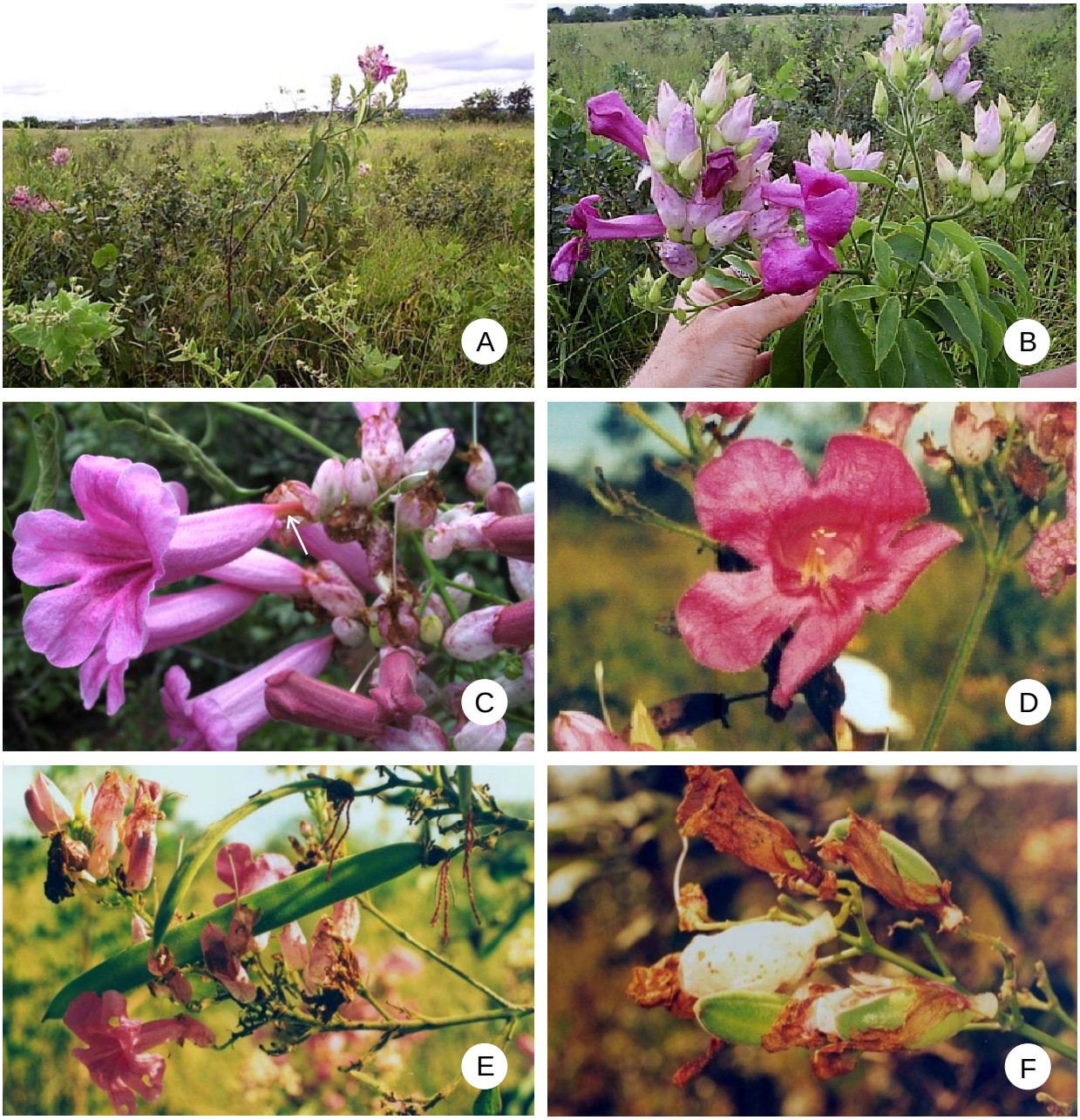

Figura 1. Hábito, flor e fruto de *Cuspidaria sceptrum*. A. Subarbusto com inflorescências terminais em área de campo sujo. B. Inflorescência. C. Cálice rasgado após a protrusão da corola. A câmara nectarífera é apontada por uma seta. D. Coloração homogênea no tubo da corola e disposição dos verticilos férteis. E. Frutos provenientes de polinização cruzada. F. Ovários galhados. Fotos A, B: Marcelo Pace. Foto C: Bia Baker.

nos cerrados e afloramentos rochosos da Bolívia e das regiões centro e leste do Brasil (Lohmann, no prelo).

O estudo foi realizado nos meses de janeiro e fevereiro de 2007 em 13 indivíduos de *Fridericia platyphylla* numa população localizada em área de campo sujo, a qual estava em rebrotamento aproximadamente 3 meses após uma queimada, na Fazenda Campo Alegre, Uberlândia, MG (18º58'43.83"S e 48º14'59.73"W). O material testemunho foi depositado no *Herbarium Uberlandense* (HUFU 47294), Uberlândia, MG. A identificação do material Botânico foi gentilmente confirmada pela especialista Dra. L. G. Lohmann. *Fridericia platyphylla* é um subarbusto cespitoso, com folhas simples, obovadas e coriáceas (Figura 2A). As inflorescências são apicais (Figura 2B), o cálice é cupuliforme, inconspicuamente 5-partido, violáceo de consistência coriácea e cobre apenas uma pequena porção da base da corola (Figura 2C). A corola é glabra e rósea, com a porção ventral do tubo branca internamente, onde se localizam os verticilos férteis (Figuras 2C-F). O ovário é glabro, séssil e circundado por um disco nectarífero. O fruto é uma cápsula septicida. Folhas e frutos são glabros. Ocorre nos cerrados do Paraguai, Bolívia, Venezuela, Peru e Brasil (Lohmann, no prelo).

Biologia floral - Para a análise dos eventos florais foram ensacados, com sacos de organza, 10 botões em pré-antese de cinco indivíduos diferentes de cada espécie, sendo dois em cada indivíduo. Ensacar os botões florais para estas análises possibilitou a observação de flores sem a interferência de herbívoros e polinizadores. As observações foram realizadas em três dias consecutivos, acompanhando o comportamento de cada flor a partir do início da antese. Foram avaliados o horário de abertura da flor, o início da produção de odor, a coloração das anteras, a sensitividade do estigma como indicativo de receptividade estigmática, e a duração da antese.

Para estimar a viabilidade polínica e o número de grãos de pólen por flor, foram utilizados 10 botões em pré-antese coletados de cinco indivíduos de *C. sceptrum* e 8 botões de quatro indivíduos de *F. platyphylla*, os quais foram armazenados em etanol 70%. A viabilidade polínica foi estimada através da coloração com Carmim Acético, onde foram considerados grãos inviáveis aqueles com tamanho reduzido e ausência de citoplasma (Dafni *et al.* 2005). A lâmina contendo todo o conteúdo de uma antera de cada botão floral foi observada sob microscópio óptico Olympus BX51 e 300 grãos de pólen foram analisados por antera. O número de grãos de pólen por flor foi estimado utilizando-se o conteúdo de duas anteras de cada botão misturado a uma solução aquosa de 1ml de glicerol 50% para contagem em Câmara de Neubauer sob microscópio óptico Olympus BX51 (Dafni *et al.* 2005).

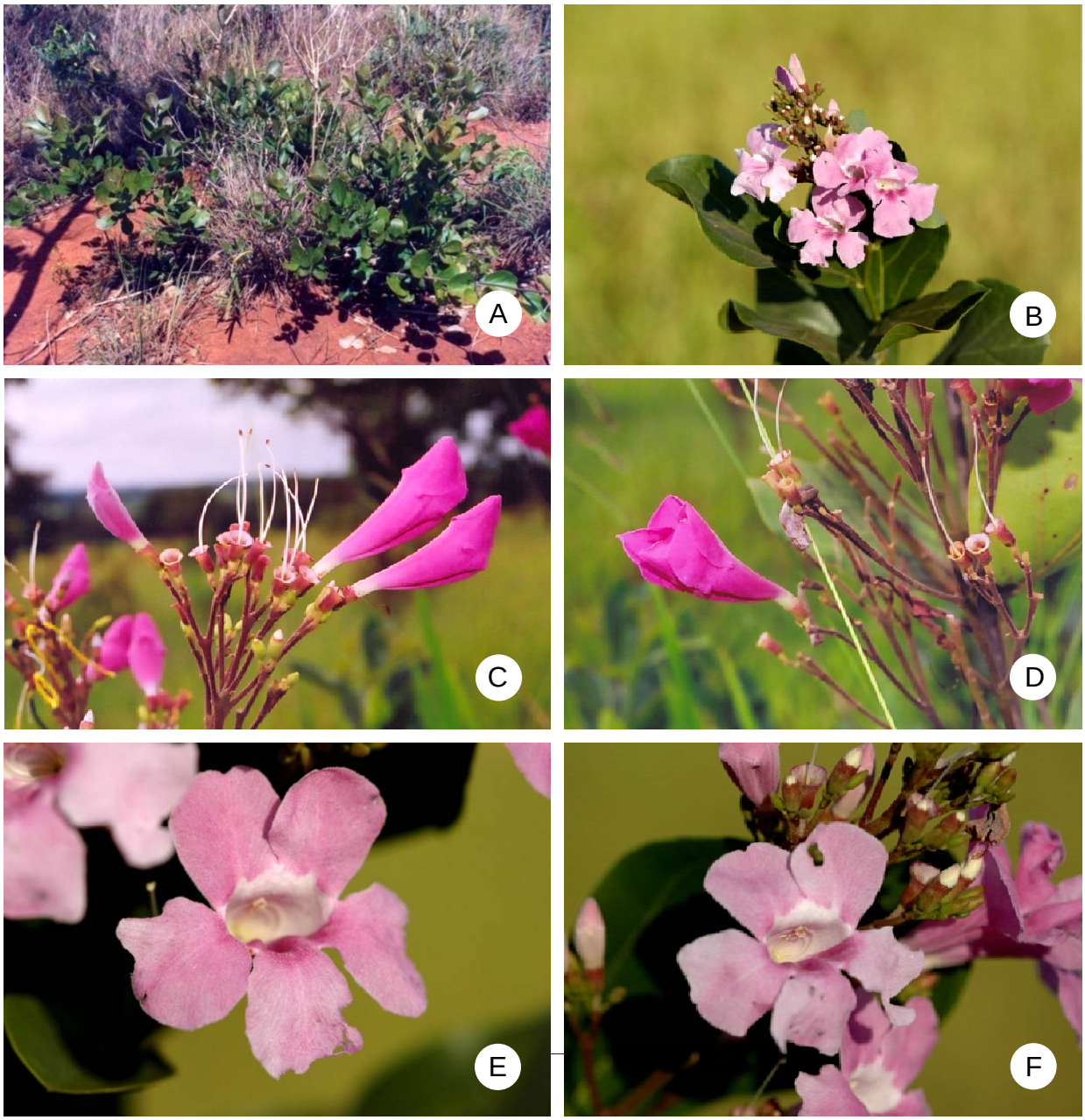

Figura 2. Hábito e flor de *Fridericia platyphylla*. A. Subarbusto de folha simples em área de campo sujo. B. Inflorescência terminal. C. Botões florais evidenciando o cálice. D. Botão floral durante a abertura da corola. E, F. Flores abertas evidenciando a diferença de coloração entre os lobos e o interior do tubo da corola, ver disposição dos verticilos férteis. Fotos B, E, F: Paulo Eugênio A. M. de Oliveira.

A razão pólen/óvulo foi obtida através do número estimado de grãos de pólen por flor pelo número de óvulos por ovário (Cruden 1977). Para a contagem do número de óvulos por ovário, foram dissecados, sob microscópio estereoscópico Olympus SZX12, 126 ovários de *C. sceptrum* e 111 de *F. platyphylla*, coletados em pelo menos cinco indivíduos diferentes e armazenados em etanol 70% ou fixados em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump 1976) em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2.

Para as medições de volume e concentração de néctar foram ensacados, com sacos de organza, 42 botões em pré-antese de oito indivíduos de *C. sceptrum* e 31 botões em pré-antese de 5 indivíduos de *F. platyphylla*. As medições foram feitas em três intervalos diferentes do primeiro dia de antese e em um do segundo dia de antese de *C. sceptrum*, observando-se aproximadamente 10 flores por intervalo. Para estimar o volume de néctar produzido foram utilizados microcapilares de 10 microlitros e para se estimar a concentração do néctar utilizou-se refratômetro de mão para medição de açúcares solúveis Eclipse, com escala de 1% (Kearns & Inouye 1993).

Visitantes florais - O estudo dos visitantes florais foi conduzido ao longo de 17 dias para *C. sceptrum*, perfazendo um total de 29 horas e 50 minutos de observação, e ao longo de 7 dias para *F. platyphylla*, perfazendo um total de 14 horas e 50 minutos de observação realizados de 8:00 às 17:30h em ambas espécies. A observação dos visitantes florais abrangeu de 13 a 22 indivíduos por espécie, realizando-se rodízios de 15 a 60 minutos de observação por indivíduo. O período de observação foi separado em quatro intervalos de duas horas a duas horas e meia cada. Visitantes florais diferentes de abelhas foram observados, mas suas visitas não foram quantificadas.

O comportamento e o número de visitas das abelhas foram registrados e a frequência de visitação das flores por espécie foi calculada (número de visitas/hora). Foram considerados pilhadores de néctar aqueles visitantes que não penetraram o tubo da corola e precisaram perfurar a base do tubo ou utilizar as perfurações já realizadas por outros visitantes florais para atingirem a câmara nectarífera. Foram considerados polinizadores ocasionais aqueles que penetraram o tubo da corola e realizaram coleta de néctar ou pólen, mas que devido ao seu tamanho reduzido apenas ocasionalmente tocaram o pistilo e as anteras durante a coleta de pólen. Já os polinizadores efetivos penetraram no tubo da corola em busca de néctar e tocaram o pistilo e as anteras todas as vezes que visitaram a flor. Apenas o primeiro indivíduo observado de cada espécie de abelha foi coletado, asfixiado com éter, montado, etiquetado e depositado na coleção entomológica do Instituto de Biologia da UFU. Os demais indivíduos observados no campo foram identificados por comparação e a identificação das abelhas

capturadas foi confirmada pelos especialistas MsC. Leonardo Correia da Rocha, Dra. Cláudia Inês Silva, Dra. Solange Cristina Augusto e Dr. Fernando Silveira.

Sistema reprodutivo - Para as polinizações experimentais, as inflorescências contendo apenas botões florais foram ensacadas com sacos de organza para excluir os potenciais polinizadores. Posteriormente, foram realizadas autopolinizações e polinizações cruzadas manuais em flores de primeiro dia emasculadas antes da polinização. Em autopolinizações utilizou-se o pólen da mesma flor polinizada e em polinizações cruzadas utilizou-se o pólen de indivíduos distantes, pelo menos, 10m dos indivíduos polinizados. Alguns botões ensacados em pré-antese foram apenas marcados para checar a ocorrência de autopolinização espontânea e outros foram emasculados antes de serem reensacados (teste para apomixia autônoma). Após a queda da corola das flores que passaram por polinizações experimentais os sacos de organza foram retirados das inflorescências. A produção natural de frutos foi monitorada através de botões marcados, mas não ensacados. O desenvolvimento dos frutos foi monitorado durante três meses após a última polinização experimental. Quando um galhador acometeu os ovários de pistilos tratados experimentalmente ou marcados em *C. sceptrum*, estes foram eliminados do experimento, pois o ovário apresentava-se hipertrofiado e era retido na planta mãe, afetando a quantificação dos ovários que efetivamente se transformaram em frutos. Dentre todos os pistilos tratados experimentalmente ou monitorados para a produção natural de frutos, de 12 a 32% foram acometidos pelo galhador e seus números não foram incluídos nas análises.

A estimativa do número de sementes por fruto foi obtida através de nove frutos provenientes de polinizações naturais e oito provenientes de polinizações cruzadas em *C. sceptrum*; e 38 frutos provenientes de polinizações naturais e quatro provenientes de polinizações cruzadas em *F. platyphylla*. O índice de autoincompatibilidade (ISI) foi determinado através da razão entre a produção de frutos de autopolinizações sobre a de polinizações cruzadas (Bullock 1985). Também foi determinada a razão entre a produção natural de frutos e a produção de frutos provenientes de polinizações cruzadas como uma estimativa de eficácia reprodutiva (RE) (Ruiz & Arroyo 1978).

Para a análise do crescimento *in situ* dos tubos polínicos, pistilos de autopolinizações e polinizações cruzadas adicionais foram coletados em diferentes indivíduos, 24, 48 e 72 horas após a polinização, sendo coletados de quatro a oito pistilos por tratamento e por intervalo em *C. sceptrum*, e de três a cinco pistilos por tratamento e por intervalo em *F. platyphylla*. Os pistilos foram imediatamente armazenados em etanol 70% após a coleta. Os pistilos foram amolecidos em solução aquosa de NaOH 9N em estufa a cerca de 46ºC por 15 minutos.

Posteriormente, foram lavados em água corrente, corados com solução aquosa de azul de anilina (adaptado de Martin 1959) e esmagados para que fosse feita a análise sob microscópio óptico de fluorescência Zeiss Axioplan. Durante a análise, foi registrado para cada pistilo se havia grãos de pólen germinando, e se os tubos polínicos atingiam o ovário e penetravam óvulos. A fim de verificar a proporção de polinizações naturais nas populações, foram coletados ao acaso 15 pistilos adicionais de flores de segundo dia de *C. sceptrum* e 29 de *F. platyphylla*. Quando 50 ou mais grãos de pólen foram observados no pistilo considerou-se que houve sucesso na polinização natural, tendo em vista o número médio de óvulos por ovário apresentado na Tabela 1.

Foram realizadas medições de altura e largura em ovários de pistilos provenientes de autopolinizações e polinizações cruzadas manuais coletados 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a polinização, e em ovários de pistilos não polinizados provenientes de flores emasculadas coletados 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a abertura da flor. As medições foram realizadas com paquímetro digital Digimess. Foram analisados cinco ou seis pistilos por tratamento e por intervalo em *C. sceptrum* e *F. platyphylla*, embora em *F. platyphylla* apenas dois pistilos de autopolinizações coletados 120 horas após a polinização e dois de flores não polinizadas coletados 120 horas após a abertura da flor puderam ser analisados. Todos os pistilos foram fixados em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump, 1976) em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2.

Análise do número cromossômico - Para a germinação das sementes destinadas às análises citogenéticas foram utilizadas caixas Gerbox® forradas com uma camada de algodão e uma folha de papel filtro umedecidas com água destilada. As sementes foram postas para germinar à temperatura ambiente e sob luz natural. As sementes consideradas germinadas apresentaram a protrusão da radícula. Os meristemas radiculares foram cortados com auxílio de lâmina de barbear e pré-tratados em PDB (Para-diclorobenzeno-Aldrich), solução saturada, por quatro horas entre 16º e 18°C. As radículas foram fixadas em solução Carnoy 3:1 (3 partes de etanol absoluto P.A. : 1 parte de ácido acético glacial) por 24 horas e armazenadas em etanol 70% em freezer abaixo de 0ºC. Para a confecção das lâminas, os meristemas radiculares foram digeridos em solução de HCl 5N por 20 minutos em temperatura ambiente e submetidos à técnica usual de esmagamento. As lamínulas foram removidas após a imersão em nitrogênio líquido. A coloração foi realizada com solução de Giemsa a 2%, variando de 10 a 30 minutos (Guerra 1983). Após a secagem das lâminas, estas foram montadas com resina semipermanente Entellan®.

Foram analisadas mais de uma lâmina de cada amostra e contaram-se pelo menos 20

células com bom espalhamento e morfologia cromossômica nas quais o número tenha permanecido constante. A contagem do número cromossômico foi realizada sob microscópio óptico Olympus BX51 e placas metafásicas foram fotografadas com auxílio de câmera digital Olympus DP70.

Análises estatísticas - O número de sementes por fruto provenientes de polinizações naturais e cruzadas foi comparado utilizando-se o teste t após a verificação da normalidade dos dados (Lilliefors Probability p>0,05) (SPSS 2000). As comparações entre as duas espécies e intervalos de análise quanto à concentração e ao volume de néctar, bem como entre os tratamentos e os intervalos após a polinização quanto à altura e largura dos ovários foram realizadas utilizando-se ANOVA de dois fatores, onde o teste de Tukey foi utilizado para comparações *a posteriori* (Ferreira 2000). A normalidade não foi testada para a realização de ANOVA de dois fatores.

Resultados

Biologia floral - A floração de *Cuspidaria sceptrum* ocorreu de março a junho de 2007, ocorrendo durante a estação seca, enquanto a de *Fridericia platyphylla* ocorreu de dezembro de 2006 a fevereiro de 2007, no pico da estação chuvosa. A abertura da corola foi observada ao longo de todo o dia em *C. sceptrum* (Tabela 1, Figura 1B). Já *F. platyphylla*, mostrou sincronia dos eventos florais entre todas as flores da população, com a abertura da corola se dando no período da manhã (Tabela 1, Figuras 2B-D). A antese floral de *C. sceptrum* dura cerca de 48 horas, enquanto a de *F. platyphylla*, dura cerca de 24 horas (Tabela 1). Os lobos do estigma já se apresentavam abertos e sensitivos ao toque e as anteras expondo os grãos de pólen no início da antese em *C. sceptrum*, e tais características só foram verificadas em *F. platyphylla* após a abertura total da corola, durante as primeiras horas de antese (Tabela 1). Os lobos do estigma permaneceram abertos e sensitivos durante toda a antese nas duas espécies. Não foi observado odor adocicado perceptível nas flores de *C. sceptrum*. Em *F. platyphylla* a flor inicia a produção de odor adocicado após as primeiras horas da antese, concomitantemente à exposição dos grãos de pólen e início da receptividade estigmática, quando também foi observado o início do escurecimento das anteras, o que acontece no final da tarde para *C. sceptrum* (Tabela 1). A viabilidade polínica fica em torno de 80 a 90%, e a razão pólen/óvulo corresponde à xenogamia facultativa nas duas espécies (Tabela 1), segundo a classificação de Cruden (1977).

A concentração média de açucares no néctar foi de 15,5±2,6% em *C. sceptrum* e de

Tabela 1: Características da biologia floral de *Cuspidaria sceptrum* e de *Fridericia platyphylla*.

Característica	***C. sceptrum***	***F. platyphylla***
Horário de abertura das flores	8:00-15:30h	8:00-10:00h
Produção de odor	ausente	10:00h-final da antese
Produção de néctar	antes de 8:00h-final do 1º dia de antese	8:00h-13:00h
Receptividade estigmática	durante toda a antese	início após as 8:00h-final da antese
Escurecimento das anteras	a partir de 17:00h 1º dia	a partir de 10:00h
Duração da antese	de 24 a 48 horas	cerca de 24 horas
Viabilidade polínica (%)	84,4% (±4,4%)	92,7% (±1,1)
Nº médio grãos de pólen/flor (± DP)	38800 (±14601,4)	18500 (±3415,6)
Nº médio óvulos/ovário (± DP)	30,1 (±5,6)	38,2 (±4,2)
Razão pólen/óvulo	1331,1	484, 5

13,7±6,4% em *F. platyphylla*. A análise da concentração média de sacarose no néctar apresentou interação entre espécie e intervalo de análise (espécie: $F_{1,22}$=0,512, p=0,482; intervalos: $F_{2,22}$=12,165, p<0,001; espécie x intervalos: $F_{2,22}$=5,833, p=0,009), e só diferiu entre as espécies no primeiro intervalo de análise, sendo constante durante a antese para *C. sceptrum* e aumentando do primeiro para o segundo intervalo em *F. platyphylla* (teste de Tukey, p<0,05) (Figura 3). A análise do volume médio de néctar acumulado variou entre as espécies e entre os diferentes intervalos de análise (Figura 3), sem interação entre espécie e intervalos de análise (espécie: $F_{1,22}$=31,223, p<0,001; intervalos: $F_{2,22}$=6,598, p=0,006; espécie x intervalos: $F_{2,22}$=1,815, p=0,186). O volume médio de néctar em *C. sceptrum* foi significativamente maior quem em *F. platyphylla* e aumentou significativamente do primeiro para o terceiro intervalo de análise (teste de Tukey, p<0,05) (Figura 3).

Visitantes florais - Foram registradas 21 espécies de abelhas visitando as flores de *C. sceptrum* e 18 espécies visitando as flores de *F. platyphylla*, sendo que a frequência de visitação na segunda espécie é muito superior à primeira (Tabelas 2 e 3). O grupo de abelhas pilhadoras de néctar foi responsável por 60,8% e 66,4% das visitas observadas nas flores de *C. sceptrum* e *F. platyphylla*, respectivamente, sendo *Oxaea flavescens* responsável por 45% e 51,5% das visitas a estas espécies (Tabelas 2 e 3).

Os polinizadores efetivos realizaram 23,2% das visitas em *C. sceptrum*, sendo *Epicharis bicolor* e *Centris fuscata* as espécies responsáveis pelo maior número de visitas (Tabela 2). *Euglossa securigera* e *E. melanotricha*, embora tenham visitado legitimamente a flor de *C. sceptrum*, foram consideradas polinizadores ocasionais, devido ao seu tamanho reduzido quando comparado ao diâmetro do tubo da corola (Figura 1D). Também foi registrada uma visita legitima de um beija-flor a esta espécie no período da manhã. Botões florais e flores de *C. sceptrum* estavam parasitados por fases juvenis de insetos (larvas) que consumiam os verticilos férteis da flor inviabilizando a polinização. Essas larvas podem ter alguma relação com a galha que acomete os ovários dessa espécie como será descrito posteriormente.

Embora *F. platyphylla* tenha tido uma frequência de visitação por abelhas muito superior à de *C. sceptrum*, apenas 5,7% das visitas foram realizadas por polinizadores efetivos, dentre os quais predominaram as visitas de *Euglossa securigera*, *Epicharis bicolor* e *E. iheringi* (Tabela 3). Por outro lado, 28,0% das visitas a esta espécie foram realizadas por polinizadores ocasionais, com predominância de *Exomalopsis fulvofasciata*, *Ceratina* sp. e uma espécie não identificada de Halictidae (Tabela 3). Vespas foram observadas se alimentando em perfurações na base da corola de *F. platyphylla* e capturando fases juvenis de

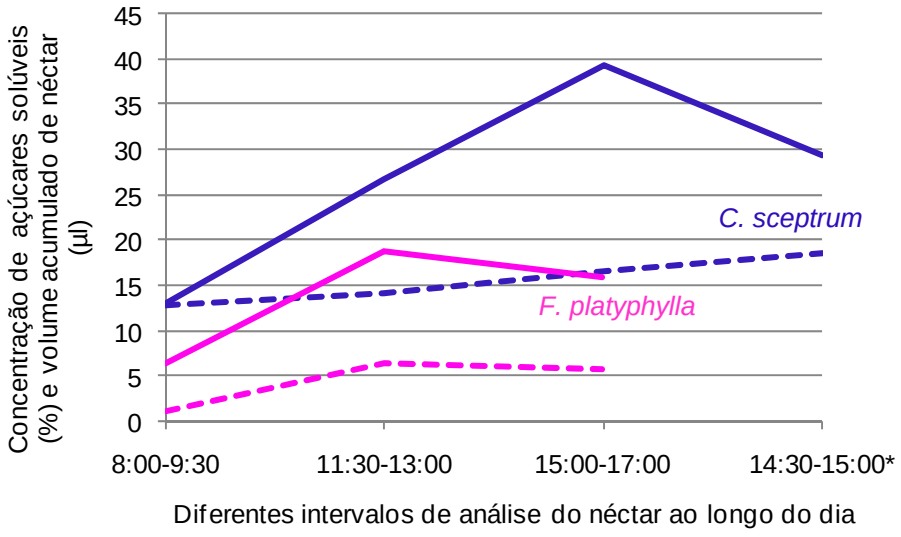

Figura 3. Concentração média de açucares solúveis (%) e volume médio do néctar acumulado (µl), em diferentes intervalos do dia em *Cuspidaria sceptrum* e *Fridericia platyphylla*. As linhas inteiras representam o volume do néctar e as pontilhadas representam a concentração. *Segundo dia de antese.

Tabela 2: Frequência de visitação por abelhas às flores de *Cuspidaria sceptrum* em área de campo sujo no Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, Uberlândia, MG. PE=polinizador efetivo; PI=pilhador de néctar; PO=polinizador ocasional.

Espécie		**Comportamento**	**Nº de visitas por hora em diferentes intervalos do dia (nº total de visitas)**				**Total (total 29h 50min)**
			8:00-10:30h (total 10h 55min)	10:30-13:00h (total 6h)	13:00-15:30h (total 7h 11min)	15:30-17:30h (total 5h 44min)	
Andrenidae							
	Oxaea flavescens Klug, 1807	PI	14,01 (153)	6,83 (41)	2,09 (15)	0,35 (2)	**7,07 (211)**
Apidae							
Centridini	*Centris (Trachina) fuscata* Lepeletier, 1841	PE	0 (0)	1,67 (10)	1,53 (11)	1,75 (10)	**1,04 (31)**
	Centris (Hemisiella) tarsata Smith, 1874	PE	0 (0)	0 (0)	0,42 (3)	0,87 (5)	**0,27 (8)**
	Centris (Xanthemisia) lutea Friese, 1899	PE	0,18 (2)	0,33 (2)	0,42 (3)	0,17 (1)	**0,27 (8)**
	Centris sp. 1	PE	0,27 (3)	0,17 (1)	0 (0)	0 (0)	**0,13 (4)**
	Centris sp. 2	PE	0 (0)	0,33 (2)	0,14 (1)	0 (0)	**0,1 (3)**
	Centris sp. 3	PE	0 (0)	0,33 (2)	0 (0)	0 (0)	**0,07 (2)**
	Epicharis (Epicharis) bicolor Smith, 1874	PE	0,73 (8)	0,83 (5)	2,92 (21)	1,22 (7)	**1,37 (41)**
	Epicharis sp. 1	PE	0,18 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,07 (2)**
Euglossini	*Euglossa (Euglossa) securigera* Dressler, 1982	PO	0,92 (10)	2,33 (14)	2,51 (18)	3,14 (18)	**2,01 (60)**
	Euglossa (Euglossa) melanotricha Moure, 1967	PO	0,18 (2)	0 (0)	0,28 (2)	0 (0)	**0,13 (4)**
	Eulaema (Apeulaema) nigrita Lepeletier, 1841	PE	0,55 (6)	0 (0)	0 (0)	0,52 (3)	**0,3 (9)**
	Eufriesia sp 1	PE	0,09 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,03 (1)**
Exomalopsini	*Exomalopsis* (*Exomalopsis*) *fulvofasciata* Smith, 1879	PO	0 (0)	0,17 (1)	0 (0)	0 (0)	**0,03 (1)**
Meliponini	*Paratrigona lineata* Lepeletier, 1836	PO	0,46 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,17 (5)**
	Trigona spinips Fabricius, 1793	PI	0,64 (7)	0,67 (4)	1,11 (8)	0,7 (4)	**0,77 (23)**
Tetrapedini	*Tetrapedia* sp. 1	PO	0,09 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,03 (1)**
Xylocopini	*Ceratina* sp. 1	PO	0 (0)	0 (0)	0,28 (2)	0 (0)	**0,07 (2)**
Halictidae							
	sp. 1	PI	1,37 (15)	1,33 (8)	0 (0)	3,14 (18)	**1,37 (41)**
	sp. 2	PI	0 (0)	0 (0)	0,14 (1)	1,57 (9)	**0,34 (10)**
Megachilidae							
	sp. 1	PO	0 (0)	0 (0)	0,14 (1)	0,17 (1)	**0,07 (2)**
TOTAL			**19,69 (215)**	**15 (90)**	**11,98 (86)**	**13,61 (78)**	**15,72 (469)**

Tabela 3: Frequência de visitação por abelhas às flores de *Fridericia platyphylla* em área de campo sujo na Fazenda Campo Alegre, Uberlândia, MG. PE=polinizador efetivo; PI=pilhador de néctar; PO=polinizador ocasional.

Espécie		**Comportamento**	**Nº de visitas por hora em diferentes intervalos do dia (nº total de visitas)**				**Total (total 14h 50min)**
			8:00-10:30h (total 7h 08min)	10:30-13:00h (total 1h 35min)	13:00-15:30h (total 4h 52min)	15:30-17:30h (total 1h 15min)	
Andrenidae							
	Oxaea flavescens Klug, 1807	PI	123,84 (883)	58,23 (92)	56,26 (274)	61,6 (77)	**89,41 (1326)**
Apidae							
Apini	*Apis mellifera* Linnaeus 1758	PO	0 (0)	0 (0)	1,44 (7)	0 (0)	**0,47 (7)**
Centridini	*Centris* sp.1	PE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1,6 (2)	**0,13 (2)**
	Epicharis (Epicharis) bicolor Smith, 1874	PE	3,09 (22)	0 (0)	6,16 (30)	0 (0)	**3,51 (52)**
	Epicharis (Epicharitides) iheringi Friese, 1899	PE	2,81 (20)	0 (0)	0 (0)	1,6 (2)	**1,48 (22)**
Euglossini	*Euglossa (Euglossa) securigera* Dressler, 1982	PE	5,61 (40)	9,49 (15)	0,41 (2)	0 (0)	**3,84 (57)**
Emphorini	*Alepidoscelis imitatrix* Schrottky, 1909	PE	0 (0)	0,63 (1)	2,26 (11)	0 (0)	**0,81 (12)**
Exomalopsini	*Exomalopsis* (*Exomalopsis*) *fulvofasciata* Smith, 1879	PO	12,48 (89)	76,58 (121)	29,57 (144)	13,6 (17)	**25,02 (371)**
Meliponini	*Trigona spinips* Fabricius, 1793	PI	23 (164)	28,48 (45)	28,13 (137)	4,8 (6)	**23,74 (352)**
Rhathymini	*Rhathymus* sp. 1	PI	0 (0)	0 (0)	0,82 (4)	0 (0)	**0,27 (4)**
Xylocopini	*Ceratina* sp. 1	PO	8,27 (59)	52,53 (83)	9,03 (44)	16,8 (21)	**13,96 (207)**
	Xylocopa sp. 1	PE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,8 (1)	**0,07 (1)**
Halictidae							
	sp. 1	PO	0 (0)	0 (0)	1,64 (8)	0 (0)	**0,54 (8)**
	sp. 2	PO	0,28 (2)	0 (0)	0,62 (3)	0 (0)	**0,34 (5)**
	sp. 3	PO	9,12 (65)	20,25 (32)	3,08 (15)	0 (0)	**7,55 (112)**
	sp. 4	PO	0 (0)	0 (0)	2,26 (11)	0 (0)	**0,74 (11)**
TOTAL			**188,5 (1344)**	**246,2 (389)**	**141,68 (690)**	**100,8 (126)**	**171,88 (2549)**

insetos (larvas) que parasitam botões florais. Diferentes espécies de Lepidoptera foram observadas inserindo a probóscide no tubo da corola para forragear néctar, podendo funcionar como polinizadores ocasionais, enquanto percevejos se comportaram como pilhadores de néctar.

Sistema reprodutivo e número cromossômico - Em *C. sceptrum*, onde o desenvolvimento dos frutos foi verificado em três diferentes momentos após a polinização, pôde-se observar que a porcentagem de pistilos que permaneceram na planta nove dias após a polinização foi muito semelhante entre pistilos submetidos à polinização cruzada manual e àqueles de flores não manipuladas, cerca de 50%. Por outro lado, pistilos submetidos à autopolinização, que tiveram as flores emasculadas ou polinizadas naturalmente, apresentaram uma porcentagem bem maior de aborto (Tabela 4), indicando que ocorreu rejeição ativa destes pistilos pela planta mãe. Exceto por um dos pistilos de flores isoladas para a verificação de autopolinização espontânea que em *F. platyphylla* (Tabela 4), todos os pistilos que passaram pelos tratamentos de autopolinização manual, autopolinização espontânea e flores emasculadas em ambas as espécies foram abortados com menos de 20 dias após a última polinização experimental (Tabela 4). A diminuição observada na porcentagem de frutos desenvolvidos de 19 para 78 dias em *C. sceptrum* provavelmente está relacionada à ação de herbívoros. Em *F. platyphylla*, não foi possível acompanhar o desenvolvimento dos frutos até a maturidade. O ISI foi igual a zero em *C. sceptrum* e igual a 0,04 em *F. platyphylla*, quando o desenvolvimento dos frutos foi observado entre 19 e 20 dias após a polinização (Tabela 4). O número cromossômico encontrado para *C. sceptrum* e *F. platyphylla* foi de 2n=40 para as 20 células em metáfase mitótica observadas em cada espécie (Figura 4).

O percentual de polinizações naturais estimada em pistilos coletados ao acaso foi de 66,7% em *C. sceptrum* e de 69,0% em *F. platyphylla*, bem superior à porcentagem de frutos que se desenvolveram em polinizações naturais (Tabela 4). A porcentagem de frutos desenvolvidos em polinizações cruzadas manuais ficou entre 30 e 45% (Tabela 4). O cálculo da eficácia reprodutiva foi baixo para ambas as espécies, de 0,08 para *C. sceptrum* e de 0,07 para *F. platyphylla*.

O número médio de sementes por fruto foi de 14,00±10,54 em polinizações naturais e de 11,75±7,21 em polinizações cruzadas manuais em *C. sceptrum* (t=-0,412, df=9, p=0,690), e foi de 26,63±9,89 em polinizações naturais e de 21,5±6,66 em polinizações cruzadas manuais em *F. platyphylla* (t=-1,008 df =40, p=0,320). Em *C. sceptrum* e *F. platyphylla*, 46,4% e 69,7% dos óvulos foram convertidos em sementes em polinizações naturais,

Tabela 4: Polinizações experimentais e desenvolvimento de frutos em diferentes dias após a última polinização experimental em *Cuspidaria sceptrum* e *Fridericia platyphylla*.

	C. sceptrum				***F. platyphylla***	
Dias após a polinização		**9dias**	**19 dias**	**78 dias**		**20 dias**
Polinizações experimentais	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**
Autopolinização manual	62	10 (16,13%)	0 (0%)	0 (0%)	76	0 (0%)
Polinização manual cruzada	62	36 (58,06%)	28 (45,16%)	13 (20,97%)	75	23 (30,67%)
Autopolinização espontânea	76	39 (51,32%)	0 (0%)	0 (0%)	89	1 (1,12%)
Flores emasculadas	95	25 (26,32%)	0 (0%)	0 (0%)	85	0 (0%)
Polinização natural (controle)	81	10 (12,35%)	3 (3,7%)	2 (2,47%)	90	2 (2,22%)

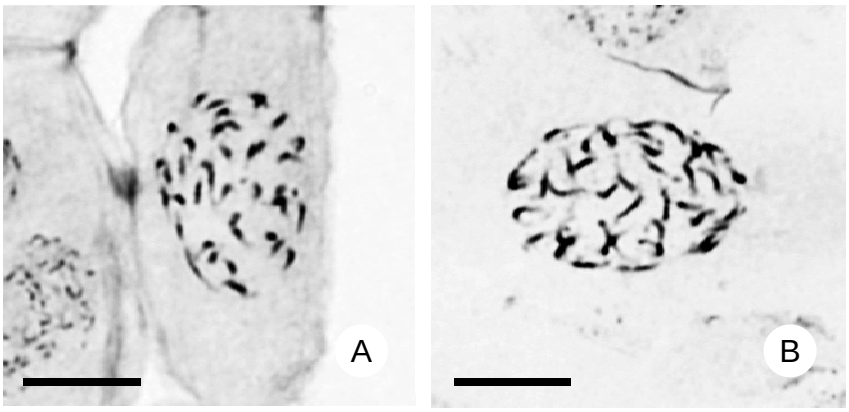

Figura 4. Células de meristema radicular em metáfase mitótica. A: *Cuspidaria sceptrum*, CCPIU, MG, 2n=40. B: *Fridericia platyphylla*, Fazenda Campo Alegre, MG, 2n=40. Barras=10µm.

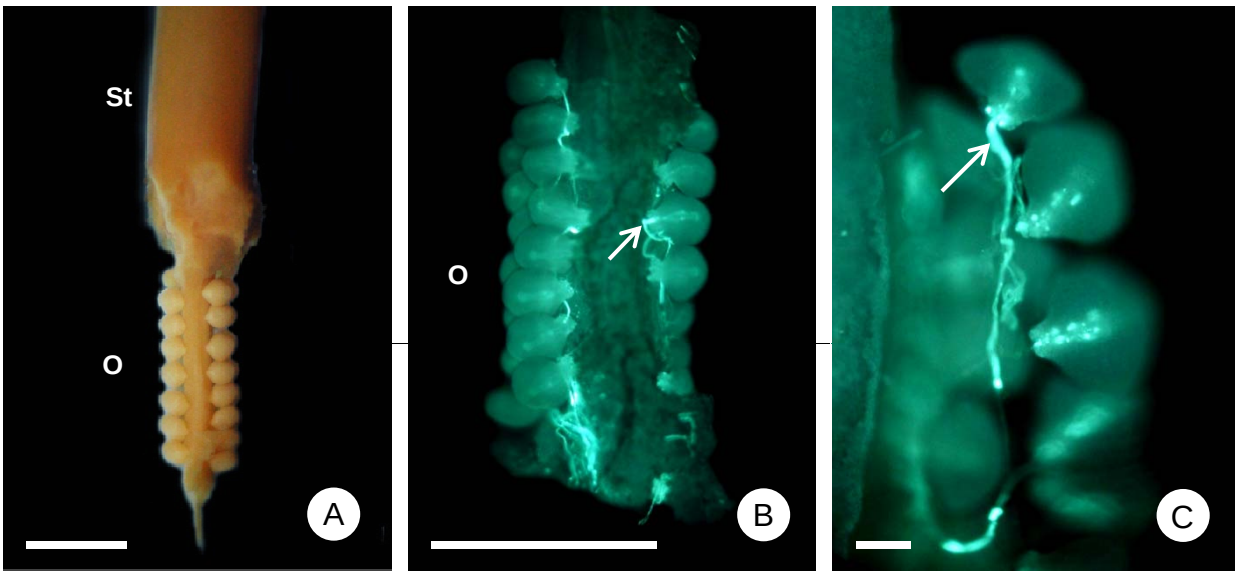

Figura 5. Pistilos de *Cuspidaria sceptrum* com a parede do ovário retirada. A. Pistilo observado sob estereomicroscópio para a contagem do número de óvulos por ovário. B, C. Pistilos corados com azul de anilina e observados sob microscópio de fluorescência. B. Tubo polínico penetrando óvulo em pistilo coletado 48 horas após a polinização cruzada. C. Tubo polínico penetrando óvulo em pistilo coletado 72 horas após a autopolinização. St: estilete; O: ovário. As setas apontam os tubos polínicos que estão penetrando óvulos. Barras=1mm (A, B), 0,1mm (C).

respectivamente (ver Tabela 1 para número de óvulos por ovário) (Figura 5A). Em *F. platyphylla* 100% dos pistilos tinham os tubos polínicos atingindo o ovário e penetrando óvulos 24 horas após a polinização, e em *C. sceptrum* 14% dos pistilos de polinizações cruzadas e 57% dos de autopolinizações apresentaram tubos polínicos no ovário e penetrando óvulos neste intervalo. Em *C. sceptrum* de 80 a 100% dos pistilos apresentaram tubos polínicos atingindo o ovário e penetrando óvulos nos intervalos de 48 e 72 horas após a polinização (Figuras 5B, C). Em *F. platyphylla* os tubos polínicos também atingiram o ovário nestes intervalos, porém em menores proporções (40 a 75% em 48 horas e 20 a 33% em 72 horas), podendo ser justificado devido a uma grande proporção dos grãos de pólen não ter germinado (25 a 40% em 48 horas e 60 a 80% em 72 horas), independente do tratamento.

Em *C. sceptrum*, a análise de altura dos ovários apresentou interação entre tratamentos e intervalos de tempo após a polinização (tratamentos: $F_{2,71}$=0,011, p=0,989; intervalos após a polinização: $F_{4,71}$=28,787, p<0,001; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{8,71}$=5,684, p<0,001). Os ovários de polinizações cruzadas aumentaram significativamente em altura de 48 horas para 96 horas e de 96 horas para 120 horas após a polinização, enquanto os de autopolinizações aumentaram de 72 horas para 96 horas (teste de Tukey, p<0,05). Foi possível verificar que pistilos de polinização cruzada foram maiores que os autopolinizados e que estes foram maiores que os não polinizados 120 horas após a polinização ou 120 horas após a abertura da flor (teste de Tukey, p<0,05). A análise de largura dos ovários também apresentou interação entre tratamentos e intervalos de tempo após a polinização (tratamentos: $F_{2,71}$=2,744, p=0,071; intervalos após a polinização: $F_{4,71}$=3,004, p=0,024; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{8,71}$=3,915, p<0,001), onde pode-se detectar um acréscimo de largura de 24 para 120 horas em pistilos polinizados e um decréscimo da largura em pistilos não polinizados de 48 para 120 horas (teste de Tukey, p<0,05). Foi possível verificar que os pistilos polinizados eram mais largos que os não polinizados 120 horas após a polinização (teste de Tukey, p<0,05).

Em *F. platyphylla* o ovário aumenta em altura de 72 horas para 96 horas em pistilos de polinização cruzada, não sendo detectado nenhum crescimento nos outros tratamentos, sendo que, os ovários de pistilos de polinizações cruzadas mostram-se mais altos que os de não polinizados em 96 horas após a polinização, e mais altos que os de não polinizados e que os de autopolinizados 120 horas após a polinização (teste de Tukey, p<0,05), apresentando interação entre os tratamentos e os intervalos após a polinização (tratamentos: $F_{2,61}$=4,572, p=0,014; intervalos após a polinização: $F_{4,61}$=4,511, p=0,003; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{8,61}$=2,730, p=0,012). Observou-se um acréscimo na largura dos ovários de 24

horas para 48 horas e de 48 horas para 120 horas apenas em pistilos provenientes de polinizações cruzadas, e em 120 horas estes pistilos foram mais largos que os não polinizados e que os autopolinizados (teste de Tukey, $p<0,05$), apresentando interação entre tratamentos e intervalo após a polinização (tratamentos: $F_{2,61}=0,660$, $p=0,520$; intervalos após a polinização: $F_{4,61}=7,805$, $p<0,001$; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{8,61}=3,998$, $p=0,001$).

Discussão

Apesar das diferenças marcadas de hábito, a biologia reprodutiva de *Cuspidaria sceptrum* e *Fridericia platyphylla* foi fundamentalmente similar à das demais espécies estudadas de Bignoniaceae (Capítulo Introdutório). Embora componham parte do estrato herbáceo-arbustivo de plantas do Cerrado, predominantemente autofértil (Barbosa & Sazima 2008), estas espécies mantiveram a necessidade de polinização por animais, principalmente por abelhas, e de fecundação cruzada para o desenvolvimento de frutos como as demais espécies arbóreas e de lianas da família (Bullock 1985, Amaral 1992, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Vitali & Machado 1995, Barros 2001, Somanathan & Borges 2001, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Correia *et al.* 2005, Correia *et al.* 2006, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Maués *et al.* 2008, Polatto & Alves Júnior 2009). A manutenção do sistema de autoincompatibilidade em espécies diplóides subarbustivas parece estar relacionada à capacidade dessas plantas de se adaptarem a este estrato vegetacional sem alterar o seu sistema reprodutivo. A conservação da atratividade para os polinizadores e a manutenção da planta no ambiente após os períodos de seca, queimadas ou podas através do rebrotamento a partir de sistemas subterrâneos bem desenvolvidos (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Santos 2008), parecem ser boas explicações para este comportamento.

Biologia floral e visitantes florais- As espécies de *Fridericia* florescem na estação chuvosa (Amaral 1992, Correia *et al.* 2005, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), como a maioria das lianas (Amaral 1992) e das espécies do estrato herbáceo-arbustivo do Cerrado (Barbosa & Sazima 2008, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Capítulos 4 e 6), embora *F. platyphylla* também tenha sido observada florescendo na estação seca (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007). Já a floração de *C. sceptrum*, no auge da estação seca, deve diminuir a competição dessa espécie por polinizadores com as demais plantas do estrato herbáceo-arbustivo. Embora possa haver sobreposição na época de floração de espécies de *Fridericia* e de outras espécies de lianas e subarbustos de Bignoniaceae, diferentes estratégias parecem evitar a ocorrência de polinizações interespecíficas na família (Gentry 1974, 1980, Amaral

evitar a ocorrência de polinizações interespecíficas na família (Gentry 1974, 1980, Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Zjhra 2008).

Todas as espécies de *Fridericia* investigadas até o momento apresentam flores cuja duração da antese é de 10 a 24 horas (Amaral 1992, Correia *et al.* 2005, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), podendo ser uma característica das espécies do gênero. A sincronia observada nos eventos florais de *F. platyphylla* deve funcionar como um atrativo extra para os visitantes florais, pois disponibiliza um grande número de novas flores ao mesmo tempo. Em *F. platyphylla*, as polinizações cruzadas devem ser realizadas apenas durante as primeiras visitas das abelhas às flores, já que um grande número de flores de primeiro dia em uma mesma planta acarreta inevitavelmente em geitonogamia e autopolinizações (Guimarães *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009, Polatto & Alves Júnior 2009, Capítulo 6). Em *C. sceptrum*, a atratividade da planta parece ser aumentada pela antese prolongada da flor, permitindo a coexistência de flores de primeiro e segundo dia. Embora o menor número de flores por planta em relação à *F. platyphylla* e a assincronia entre eventos florais numa mesma planta possam estimular a ocorrência de polinizações cruzadas nesta espécie, a frutificação em condições naturais foi baixa nas duas espécies. Caso as primeiras visitas às flores sejam correspondentes à geitonogamia, essas podem comprometer a eficácia reprodutiva da planta se o fechamento do estigma nas espécies estudadas for como em *Oroxylum indicum* (L.) Kurz, fechando-se definitivamente após a deposição de grãos de pólen da mesma espécie, sejam eles de autopolinizações ou de polinizações cruzadas (Sritongchuay *et al.* 2010).

A presença de odor adocicado é comum para as espécies de *Fridericia* (Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), exceto para *F. triplinervia* (Mart. ex DC.) L. Lohmann, que possui odor cítrico (Amaral 1992). O odor adocicado em associação ao grande número de ramos agregados em uma mesma planta devem ter contribuído para a maior frequência de visitação por abelhas às flores de *F. platyphylla* no presente estudo e em estudos anteriores (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007). A ausência de odor adocicado verificada em *C. sceptrum* pode interferir na atração dos polinizadores e deve ser investigada para as demais espécies do gênero.

A concentração média do néctar nas duas espécies estudadas é semelhante à observada para as demais espécies de *Fridericia*, entre 16 e 21% (Amaral 1992, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), e superior à observada para *Tanaecium selloi* (Spreng.) L. Lohmann, com 9,5% (Amaral 1992). O volume reduzido do néctar de *F. platyphylla* corresponde ao encontrado para as demais espécies do gênero (Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), mas é bem menor que o encontrado

para *C. sceptrum* e para outras espécies de Bignoniaceae (Amaral 1992, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Capítulos 4 e 6). A menor quantidade de néctar disponível nas flores de *F. platyphylla* deve ser outro fator que proporciona a maior frequência de visitação às suas flores quando comparada a outras Bignoniaceae (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), visto que as abelhas precisam visitar mais flores para obterem a quantidade de néctar de que precisam. A produção continuada de néctar no primeiro dia de antese em *C. sceptrum*, cessando no segundo dia, também foi observada para outras Bignoniaceae (Guimarães *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009, Capítulos 4 e 6).

A predominância da visitação por abelhas pilhadoras de néctar, causa uma diminuição no volume do néctar disponível para as abelhas que visitam legitimamente a flor, diminuindo o tempo de permanência destas abelhas em cada flor e aumentando a movimentação entre as plantas (Maloof 2001, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), o que pode contribuir para um incremento das polinizações cruzadas. Embora a frequência de visitação por abelhas tenha sido maior em *F. platyphylla*, a porcentagem de pistilos polinizados naturalmente foi similar em ambas as espécies. Embora uma grande porcentagem de pistilos tenha sido polinizada, o que corrobora a presença de polinizadores na área, a eficácia reprodutiva foi extremamente baixa para as duas espécies, podendo estar relacionada à herbivoria (Carvalho *et al.* 2007, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009) ou à ocorrência de polinizações qualitativamente deficientes (Bawa & Webb 1984, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). A disponibilidade de recursos não deve ter sido o principal fator limitante ao desenvolvimento de um maior número de frutos em polinizações naturais, visto que em polinizações manuais cruzadas o desenvolvimento de frutos foi superior.

Embora as Euglossini sejam reportadas como as principais polinizadoras das flores de Bignoniaceae (Gentry 1974), os polinizadores efetivos mais frequentes nas duas espécies estudadas foram abelhas da tribo Centridini. Em *C. sceptrum*, as espécies de *Euglossa* tocam o estigma apenas ocasionalmente, visto que a abertura do tubo da corola tem um diâmetro que dificulta este contato durante a visita. *Bombus atractus* Franklin, 1913 foi o polinizador mais frequente de *F. platyphylla* em estudos anteriores no estado de São Paulo (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), o que mostra que o espectro de polinizadores é definido principalmente pelo tamanho e requerimento de forrageio (Barbosa & Sazima 2008, Oliveira & Gibbs 2000).

Sistema reprodutivo - Embora a razão pólen/óvulo aponte para a ocorrência de xenogamia facultativa nas duas espécies e a formação de frutos de autopolinização e geitonogamia já tenha sido observada em outra população de *F. platyphylla* (Ynagizawa &

Maimoni-Rodella 2007), o resultado das polinizações experimentais em *C. sceptrum* e *F. platyphylla* corresponde à ocorrência de um sistema de autoincompatibilidade nas populações analisadas. As espécies são autoincompatíveis e diplóides, com 2n=40, o número mais frequente para as Bignoniaceae (Goldblatt & Gentry 1979).

Os ovários de pistilos de polinizações cruzadas são maiores que os de autopolinizações e que os de pistilos não polinizados 120 horas após a polinização para as duas espécies, indicando que a rejeição aos pistilos autopolinizados possa estar em curso (Bittencourt Júnior 2003). A diminuição de largura observada em pistilos não polinizados de *C. sceptrum* pode estar relacionada à desidratação destes pistilos e ao início de sua abscisão. Em *C. sceptrum*, o aborto de pistilos autopolinizados se dá de maneira concentrada entre o quinto e o nono dia após a polinização e em *F. platyphylla*, até o vigésimo dia. O aborto dos pistilos autopolinizados de maneira uniforme corrobora a presença de um sistema de autoincompatibilidade de ação tardia controlado geneticamente (Seavey & Bawa 1986, Bittencourt Júnior 2003). As porcentagens semelhantes de pistilos abortados em autopolinizações e polinizações naturais, nove dias após os experimentos de polinização em *C. sceptrum*, indicam que parte dos pistilos de polinização natural tenha recebido carga polínica predominantemente não compatível.

A baixa eficácia reprodutiva de *C. sceptrum* e *F. platyphylla* parece ser comum nas espécies de Bignoniaceae (Amaral 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2004, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Correia *et al.* 2005, Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009, Capítulos 4 e 6), mas diferentes fatores parecem ser responsáveis por esta característica. Um número de polinizadores efetivos e frequência de visitação reduzidos (Vieira *et al.* 1992, Guimarães *et al*. 2008); a ação destrutiva de alguns pilhadores (Carvalho *et al.* 2007, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009); limitação de recursos da planta mãe para investir no desenvolvimento dos frutos, e uma elevada carga de auto pólen em polinizações naturais de plantas autoincompatíveis (Stephenson 1981, Bawa & Webb 1984, Sutherland 1987, Capítulo 6) são alguns exemplos do que pode acarretar baixa eficácia reprodutiva. Como a polinização natural esteve acima de 60% nas duas espécies estudadas, acredita-se que a baixa eficácia reprodutiva ocorra devido a uma combinação da capacidade das plantas em suportarem um determinado número de frutos, além de um elevado número de polinizações incompatíveis, como autopolinizações ou polinizações mistas com elevada carga de auto pólen (Gentry 1974, Stephenson 1981, Bawa & Webb 1984, Sutherland 1987, Correia *et al.* 2005).

A capacidade que as espécies subarbustivas e algumas arbóreas possuem de

restabelecer a parte aérea e de produzir ramets a partir de sistemas subterrâneos desenvolvidos podem ser formas de adaptação ao novo habitat (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Barbosa & Sazima 2008, Santos 2008) que permitam a manutenção dos sistemas de polinização e reprodutivo das espécies congenéricas de mata (Oliveira & Gibbs 2002). Provavelmente, a predominância de espécies autoférteis e apomíticas no estrato herbáceo-arbustivo deve ocorrer devido à maior presença de espécies anuais (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008).

Os dados encontrados corroboram a idéia de que a adaptação das formas subarbustivas de Bignoniaceae às fitofisionomias abertas do Cerrado não está necessariamente relacionada a eventos de poliploidização e ao estabelecimento de autofertilidade ou apomixia (Capítulos 1, 4 e 6). Ao invés disso, as espécies de Bignoniaceae demonstram-se extremamente conservadoras quanto à sua ploidia e sistema reprodutivo (Goldblatt & Gentry 1979, Capítulo Introdutório, Capítulo 1), independente da forma de vida (Amaral 1992, Bittencourt Júnior 2003, Capítulos 1, 4 e 6). Provavelmente, os fatores que acarretam a ocorrência de poliploidia, autofertilidade e apomixia em populações de espécies lenhosas (Piazzano 1998, Dutra & Machado 2001, Costa *et al.* 2004, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Capítulos 1, 2), de lianas (Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Capítulo 1) e subarbustos (Firetti 2009, Capítulo 3) de Bignoniaceae são independentes da forma de vida a que as espécies estão adaptadas.

Referências Bibliográficas

Allem, A. C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long term evolutionary prospects in the angiosperms. **The Botanical Review** 69: 225-251.

Amaral, M. E. C. 1992. Ecologia floral de dez espécies da tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semi-decídua no município de Campinas, SP. **Tese de Doutorado**, Departamento de Ecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Barbosa, A. A. A. & Sazima, M. 2008. Biologia reprodutiva de plantas herbáceo-arbustivas de uma área de campo-sujo de Cerrado. In: Sano, S. M., Almeida, S. P. & Ribeiro, J. F. (eds.). p. 291-318. **Cerrado: Ecologia e Flora,** vol. 1. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, e Embrapa Cerrados, Planaltina.

Barringer, B. C. 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. **American Journal of Botany** 94: 1527-1533.

Barros, M. G. 2001. Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth & Hook and *T.*

ochracea (Cham). Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 255-261.

Bawa, K. S. & Webb, C. J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. **American Journal of Botany** 71: 736-751.

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2004. Pollination biology and breeding system of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae). **Plant Systematics and Evolution** 247: 241-254.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2005. Late-acting self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). **International Journal of Plant Sciences** 166: 493-506.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2006. Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). **Australian Journal of Botany**, 54:315-324.

Bullock, S. H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. **Biotropica** 17: 287-301.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Carvalho, A. T., Santos-Andrade, F. G. & Schlindwein, C. 2007. Baixo sucesso reprodutivo em *Anemopaegma laeve* (Bignoniaceae) no Parque nacional do Catimbau, Pernambuco. **Revista Brasileira de Biociências** 5: 102-104.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. & Lima, H. A. 2005. Biologia floral e polinização de *Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart. (Bignoniaceae). **Acta Botânica Brasílica** 19: 501-510.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. B. & Lima, H. A. 2006. Biologia floral e polinização de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae). **Lundiana** 7: 39-46.

Costa, M. E., Sampaio, D. S., Paoli, A. A. S. & Leite, S. C. A. L. 2004. Poliembrionia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Cham.) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 395-406.

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

Dafni, A., Kevan, P. G. & Husband, B. C. 2005. **Practical pollination ecology**. Enviroquest,

Cambrige.

Dutra, J. C. S. & Machado, V. L. L. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante seu período de floração. **Neotropical Entomology** 30: 43-53.

Ferreira, D. F. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria.** São Carlos: 255-258.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Forni - Martins, E. & Martins, F. R. 2000. Chromosome studies on Brazilian Cerrado plants. **Genetic and Molecular Biology** 23: 947-955.

Gentry, A.H. 1974. Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61:728-759.

Gentry, A. H. 1980. Bignoniaceae - Part. I. (Crescentieae and Tourrettieae). **Flora Neotropica** Monog. 25: 1-130.

Gibbs, P. E. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. **Revista Brasileira de Botânica** 13: 125-136.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibily. **Botanica Acta** 106: 64-71.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LST: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. **Annals of Botany** 84: 449-457.

Gobatto-Rodrigues, A. A. & Stort, M. N. S. 1992. Biologia floral e reprodução de *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 15: 37-41.

Goldblatt, P. & Gentry, A. H. 1979. Cytology of Bignoniaceae. **Botanical Notiser** 132: 475-482.

Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberber, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american tropical seasonal ecosystem**. Ulm: Reta Verlag, Germany.

Guerra, M. 1983. O uso do Giemsa em citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandeamento**. Ciência e Cultura** 35: 190-193.

Guimarães, E., Di Stasi, L. C. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2008. Pollination biology of

Jacaranda oxyphylla with an emphasis on staminode function. **Annals of Botany** 102: 699–711

Hörandl, E. & Paun, O. 2007. Patterns and sources of genetic diversity in apomictic plants: implications for evolutionary potentials. In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 169-194. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Husband, B. C., Ozimec, B., Martin, S. L. & Pollock, L. 2008. Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: current trends and insights from syntetic polyploids. **International Journal of Plant Sciences** 169: 195-206.

Kearns, C. A. & Inouye, D.W. 1993. **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado, Niwot.

Ledru, M. P. 2002. Late quaternary history and evolution of the Cerrados as revealed by palynological records In: **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna** (P.S. Oliveira, R.J. Marquis, eds.), Columbia University Press, New York. p. 33-50.

Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford.

Lohmann, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignonieae, Bignoniaceae). **American Journal of Botany** 93: 304-318.

Lohmann, L.G. no prelo. A new generic classification of Bignonieae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. **Annals of the Missouri Botanical Garden**.

McDowell, E. M & Trump, B. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine** 100: 405-414.

Maloof, J.E. 2001. The effects of a bumble bee robber on plant reproductive success and pollinator behavior. **American Journal of Botany** 88:1960-1965.

Martin, F.W. 1959. Staining and observering pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technology** 34: 125-128.

Maués, M. M., Oliveira, P. E. A. M. & Kanashiro, M. 2008. Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the “Floresta Nacional do Tapajós”, Central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** 31: 517-527.

Milet-Pinheiro, P. & Schlindwein, C. 2009. Pollination in *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae): euglossine pollinators, nectar robbers and low fruit set. **Plant Biology** 11: 131-141.

Morawetz, W. 1986. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody

plants. **Plant Systematics and Evolution** 152: 49-100.

Oliveira, P.E. & Gibbs, P.E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of central Brazil. **Flora** 195: 311-329.

Oliveira, P. E. & Gibbs, P. E. 2002. Pollination and reproductive biology in cerrado plant communities. In: **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna** (P.S. Oliveira, R.J. Marquis, eds.), Columbia University Press, New York. p. 329-347

Pannell, J. R., Obbard, D. J. & Buggs, R. J. A. 2004. Polyploidy and the sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua*? **Biological Journal of the Linnean Society** 82: 547-560.

Piazzano, M. 1998. Números cromosómicos en Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** 26: 179-189.

Polatto, L. P. & Alves Júnior, V. V. 2009. Sistema reprodutivo de *Sparattosperma leucanthum* (Vell.) K. Schum. (Bignoniaceae). **Revista Árvore** 33: 289-296.

Qu, R., Li, X., Luo, Y., Dong, M., Xu, H., Chen, X. & Dafni, A. 2007. Wind-dragged corolla enhances self-pollination: a new mechanism of delayed self-pollination. **Annals of Botany** 100: 1155–1164.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 29: 467-501.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 33: 589-639.

Richards, A. J. 1986. **Plant Breeding Systems**. George Allen & Unwin, London.

Ruiz, T. Z. & Arroyo, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary decidual tropical forest. **Biotropica** 10: 221-230.

Santos, E. M. G. 2008. Biologia reprodutiva de *Jacaranda oxyphylla* Cham. e *Zeyheria montana* Mart. (Bignoniaceae). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu, Botucatu, SP.

Seavey, S. R. & Bawa, K. S. 1986. Late-acting self-imcompatibility in angiosperms. **The Botanical Review** 52: 195-219.

Somanathan, H. & Borges, R. M. 2001. Nocturnal pollination by the carpenter bee *Xylocopa tenuiscapa* (Apidae) and the effect of floral display on fruit set of *Heterophragma quadriloculare* (Bignoniaceae) in India. **Biotropica** 33: 78–89.

SPSS. 2000. **Systat version 10**. SPSS Inc., San Francisco, Califórnia.

Sritongchuay, T., Bumrungsri, S., Meesawat, U. & Mazer, S. J. 2010. Stigma closure and re-

opening in *Oroxylum indicum* (Bignoniaceae): causes and consequences. **American Journal of Botany** 97: 136–143.

Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. **Annual Review of Ecology Systematics** 12: 253-279.

Sutherland, S. 1987. Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental testes with *Agave mckelveyana*. **Evolution** 4(4): 750-759.

Vieira, M. F., Meira, R. M. S. A., Queiroz, L. P. & Meira Neto, J. A. A. 1992. Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) DC. (Bignoniaceae) em área de Cerrado do Sudeste Brasileiro. **Anais do 8º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo**: 13-19.

Vitali, M. I. & Machado, V. L. L. 1995. Entomofauna visitante das flores de *Tabebuia chrysotricha* (Mart.) Standl. (Bignoniaceae). **Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil** 24: 77-88.

Zjhra, M. L. 2008. Facilitating sympatric species coexistence via pollinator partitioning in endemic tropical trees of Madagascar. **Plant Systematics and Evolution** 271: 157–176

Ynagizawa, Y. 1983. Aspectos da biologia floral de espécies de *Arrabidaea* e *Jacaranda*, no município de Botucatu, SP. **Tese de Doutorado**, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Ynagizawa, Y. A. N. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five Melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50: 1043-1050.

ECOLOGIA REPRODUTIVA DE DUAS ESPÉCIES SUBARBUSTIVAS DE *JACARANDA* (BIGNONIACEAE) EM DIFERENTES ÁREAS DE CERRADO

Resumo

Jacaranda é o gênero mais basal de Bignoniaceae, característico por apresentar flores roxas com um estaminódio glandular desenvolvido. Suas espécies são predominantemente autoestéreis e diplóides, como a maior parte da família. O gênero é neotropical e constituído principalmente por árvores típicas de florestas, mas também por árvores, arbustos e subarbustos xilopodiais típicos do Cerrado. Como o estrato arbóreo das florestas e cerrados é predominantemente autoestéril, enquanto o herbáceo-arbustivo é predominantemente autofértil, o presente trabalho teve como objetivo verificar se espécies de *Jacaranda* subarbustivas e típicas do Cerrado poderiam manter o sistema de autocompatibilidade marcante de Bignoniaceae ou se a forma de vida poderia influenciar a biologia reprodutiva das espécies. Para isso, estudamos a biologia floral, a biologia da polinização e o sistema reprodutivo de *J. paucifoliolata* e *J. rufa.* Nossos resultados mostraram que estas espécies são polinizadas principalmente por abelhas da tribo Euglossini, requerendo a ocorrência de polinizações cruzadas para o desenvolvimento de frutos como as demais espécies arbóreas e de lianas de Bignoniaceae. A baixa eficácia reprodutiva verificada em *J. rufa* pode estar relacionada ao grande número de flores por planta e ao elevado volume de néctar, que embora gerem uma maior frequência de visitação por abelhas, aumentam a ocorrência de geitonogamia. Enquanto a maior eficácia reprodutiva de *J. paucifoliolata* pode estar relacionada ao reduzido número de flores por planta, que estimula a ocorrência de polinizações cruzadas. O crescimento de tubos polínicos e a penetração de óvulos em pistilos autopolinizados, os quais são abortados posteriormente, indicam que o sistema de autoincompatibilidade de ação tardia esteja presente nessas espécies, como verificado para 50% das Bignoniaceae já investigadas. A adaptação dessas espécies ao estrato herbáceo-arbustivo não interferiu na polinização por abelhas e no sistema reprodutivo típico da família. Isso foi possível graças à manutenção da atratividade para os polinizadores e à presença de um sistema subterrâneo que permite o rebrotamento após longos períodos de seca ou queimadas, reconstituindo a parte aérea das plantas desse estrato.

Palavras-chave: autoincompatibilidade, eficácia reprodutiva, forma de vida, sistema reprodutivo.

Introdução

O bioma Cerrado apresenta uma grande diversidade de sistemas de polinização com a predominância de plantas polinizadas por abelhas de médio e grande porte (Oliveira & Gibbs 2002, Barbosa & Sazima 2008). Os sistemas reprodutivos de plantas arbóreas do Cerrado são predominantemente de autoincompatibilidade (Oliveira & Gibbs 2000, 2002), semelhante ao observado para as plantas arbóreas de florestas tropicais úmidas (Bawa 1974, Bawa *et al.* 1985, Bullock 1985). Por outro lado, o estrato herbáceo-arbustivo tanto das florestas como do Cerrado apresentam espécies predominantemente autoférteis (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008). As semelhanças entre os sistemas reprodutivos de plantas do Cerrado e de florestas tropicais úmidas pode refletir as relações filogenéticas entre as suas espécies (Oliveira & Gibbs 2000, Capítulo 1), como no caso das espécies vicariantes (Sarmiento & Monasterio 1983).

Embora a flora do estrato herbáceo-arbustivo possua uma ampla gama de polinizadores e possa realizar elevadas taxas de polinização cruzada, ela é predominantemente autofértil (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008). Esse tipo de comportamento reprodutivo deve ser importante para que a reprodução sexuada seja garantida nas espécies com ciclo de vida curto, adaptadas aos regimes de seca, fogo e ao pastoreio (Barbosa & Sazima 2008). A presença de sistemas subterrâneos resistentes em plantas perenes, que promovem o rebrotamento da parte aérea durante a estação chuvosa, também é uma forma das espécies se adaptarem ao estrato herbáceo-arbustivo, garantindo a manutenção da planta no ambiente e a reprodução sexuada para a próxima estação reprodutiva (Miranda *et al*. 2002, Barbosa & Sazima 2008, Santos 2008).

A família Bignoniaceae ocorre em praticamente todo o território brasileiro, é representada principalmente por lianas e árvores, mas também por arbustos, subarbustos e raramente ervas. O sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) predomina entre as espécies da família (Bawa 1974, Seavey & Bawa 1986, Amaral 1992, Vieira *et al.* 1992, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Barros 2001, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2004, 2005, 2006, Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009, Vikas *et al.* 2009), mas já foram registrados casos de autofertilidade (Bullock 1985, Gobatto-Rodrigues & Stort 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Qu *et al.* 2007) e de apomixia (Bittencourt Júnior & Semir 2005, Costa *et al.* 2004, Souza *et al*. 2005, Capítulo 3, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados) algumas vezes associados à poliploidia (Piazzano 1998, Firetti 2009, Capítulo

1).

O gênero *Jacaranda* Juss. (Bignoniaceae) é neotropical, com aproximadamente 49 espécies distribuídas desde a Guatemala até o norte da Argentina em formações florestais e savânicas (Gentry 1992). Suas espécies são representadas principalmente por árvores, mas também por arbustos e subarbustos xilopodiais que ocorrem geralmente nos cerrados do Brasil, e apresentam rebrotamento de toda a parte aérea a cada estação reprodutiva (Gentry 1992, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006). O gênero *Jacaranda* faz parte do clado mais basal da família (Olmstead *et al.* 2009) e se destaca pela presença de um estaminódio muito proeminente (Gentry 1992) que parece auxiliar na atração de polinizadores e no contato desses com os órgãos reprodutivos da flor (Bittencourt Júnior & Semir 2006, Guimarães *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Suas espécies também se diferenciam por apresentar o número cromossômico diplóide constante de 2n=36, com exceção de *J. mimosifolia* D. Don com 2n=66, enquanto a maior parte das espécies da família apresenta predominantemente 2n=40 (Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998, Capítulo Introdutório, Capítulo 1).

Os dados de ecologia reprodutiva disponíveis demonstram que as sete espécies de *Jacaranda* estudadas quanto ao sistema reprodutivo são autoincompatíveis, independente do habitat, como verificado para a Floresta Amazônica (Maués *et al.* 2008), para o Cerrado (Vieira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Barbosa & Sazima 2008, Guimarães *et al.* 2008), e para a Caatinga (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Entretanto, existe registro de uma população autoestéril (Guimarães *et al.* 2008) e uma autofértil de *J. oxyphylla* Cham., um subarbusto do Cerrado (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007). Foi verificada reduzida frutificação a partir de autopolinizações para algumas espécies subarbustivas de *Jacaranda* desse bioma, podendo indicar a existência de uma certa flexibilidade no sistema reprodutivo de autoincompatibilidade destas espécies (Vieira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Guimarães *et al.* 2008). O relato de sementes poliembriônicas em *J. cuspidifolia* Martius ex DC., uma espécie arbórea típica do Cerrado, poderia ser um indicativo da ocorrência de apomixia (C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados), embora outra população apresente apenas sementes monoembriônicas (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). Esses dados podem ser um indicativo de que ocorram mosaicos reprodutivos entre populações de espécies de *Jacaranda* como observado para outras espécies da família (Capítulo 1, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados).

Apesar do tipo de sistema reprodutivo das espécies de angiospermas parecer muitas vezes ser dependente de filogenia (Goldenberg & Shepherd 1998, Allen & Hiscock 2008,

Capítulo 1), a forma de vida da planta pode influenciar na evolução do seu sistema reprodutivo (Oliveira & Gibbs 2000, Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008). Dada a presença de diversas espécies subarbustivas de *Jacaranda* no Cerrado, que provavelmente têm origem nas congenéricas arbóreas de florestas tropicais úmidas, o presente estudo teve como objetivo verificar se o sistema de autoincompatibilidade teria sido mantido nas espécies subarbustivas ou se ele teria sido alterado devido às novas condições impostas pela transição de habitat e hábito. Para isso, os sistemas de polinização e reprodução de *Jacaranda rufa* Manso e *J. paucifoliolata* Martius ex. A. P. de Candolle foram estudados em diferentes áreas de Cerrado, a fim de verificar se estas espécies mantiveram o padrão reprodutivo encontrado para a família, ou se passaram por modificações que podem estar relacionadas ao novo habitat e hábito.

Material e Métodos

Espécies estudadas e áreas de estudo - *Jacaranda rufa* é um arbusto com xilopódio, que varia entre 0,5 e 2m de altura (Figuras 1A, C). As folhas são bipinadas, os folíolos são sésseis e a raque é alada. As flores possuem corola tubular campanulada acima de um tubo basal estreito, é roxa com o tubo branco internamente (Figuras 2A-C). O estaminódio é mais comprido que os estames e o pistilo e possui tricomas glandulares ao longo de todo o seu comprimento. O ovário é glabro com um disco nectarífero em sua base. O fruto é uma cápsula elíptica a obovada, glabra e de consistência dura (Figuras 1D, 2D). A espécie está presente principalmente nos campos-cerrados, mas também ocorre em cerrado sentido restrito e cerradões, nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Norte do Brasil e no oeste da Bolívia (Gentry 1992).

Foram estudados 24 indivíduos de *J. rufa* localizados ao longo de 1 Km nas adjacências de uma estrada dentro do Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (PESCAN) (17º46’45”S e 48º40’26”W), Caldas Novas, GO, em outubro de 2006. O PESCAN localiza-se no platô central do território brasileiro e é caracterizado pela vegetação típica do Cerrado com diversas fitofisionomias, onde predomina o cerrado sentido restrito. Apresenta um histórico de queimadas recentes informadas pelos funcionários do Parque, sendo uma de grande intensidade em agosto de 2006. Dessa forma, o estudo da ecologia reprodutiva de *J. rufa* foi realizado pouco mais de dois meses após uma queimada e no início da estação chuvosa, o que proporcionou o rebrotamento e floração maciços dessa espécie nas áreas queimadas do PESCAN (Figuras 1A, B). O material testemunho encontra-se depositado no *Herbarium*

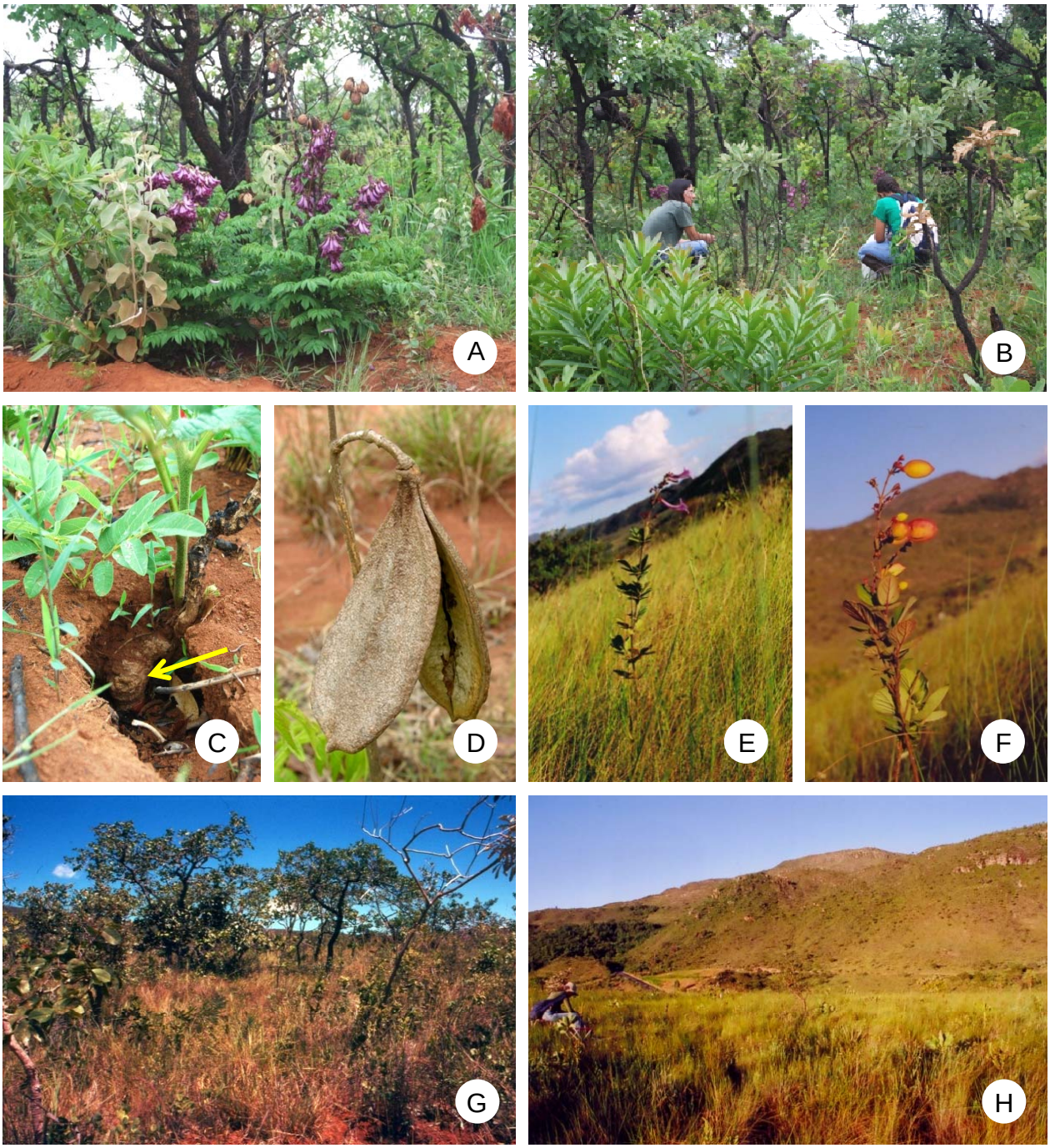

Figura 1. Espécies estudadas e áreas de estudo. A-D. *Jacaranda rufa* no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, GO. E-H. *Jacaranda paucifoliolata* na Serra do Cipó. A. Espécime florido onde podem ser observadas cápsulas de frutos da estação anterior que já liberaram suas sementes. B. Cerrado sentido restrito com espécimes de *J. rufa* em flor. A área foi queimada cerca de dois meses antes de retirada esta fotografia. C. A seta aponta um xilopódio com um ramo queimado da estação anterior e um ramo que brotou durante a presente estação de crescimento. D. Fruto aberto. E. Subarbusto em flor. F. Subarbusto em fruto. G. Área de cerrado sentido restrito dentro do Parque Nacional da Serra do Cipó (PNSC). H. Área de campo limpo utilizada como pastagem nos arredores do PNSC. Foto D: Sérgio F. Lopes.

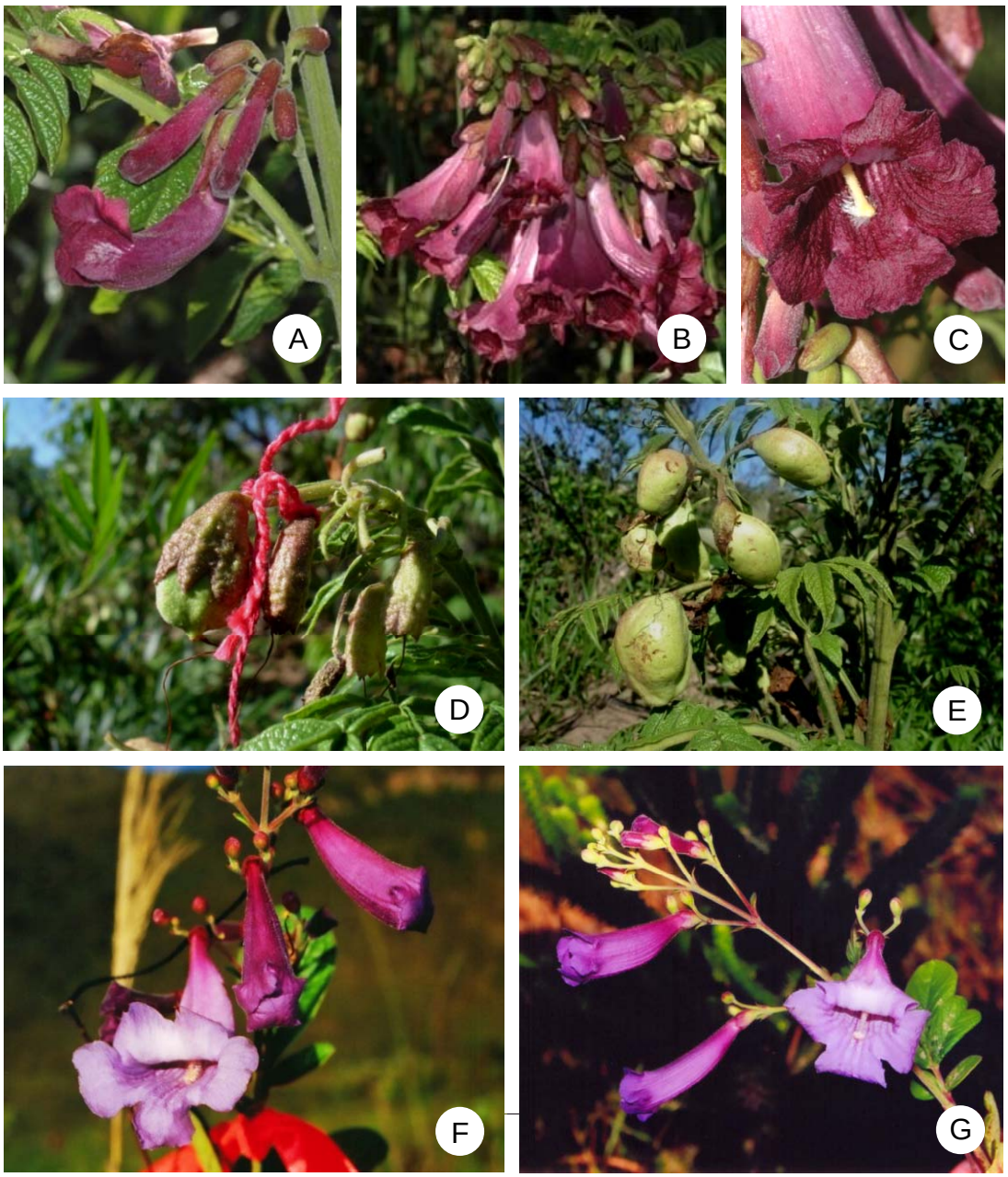

Figura 2. Flores e frutos. A-E. *J. rufa*. F, G. *J. paucifoliolata*. A. Botão floral iniciando a antese. B. Várias flores recém abertas com lascínios ainda não distendidos no início da manhã. C. Flor recém aberta com lascínios distendidos e estaminódio visível também no início da manhã. D. Fruto sadio, oriundo de polinização cruzada manual, com cerca de 19 dias de desenvolvimento. E. Frutos galhados, com cerca de 19 dias de desenvolvimento. F. Botões florais e flor. G. Botões florais iniciando a antese no final da tarde e flor aberta expondo estaminódio.

Uberlandense (HUFU 46276 e HUFU 46277). A identificação do material Botânico foi gentilmente confirmada pela especialista Dra. L. G. Lohmann.

Jacaranda paucifoliolata é um subarbusto, que varia entre 0,4 e 1,5m de altura (Figuras 1E, F). As folhas são pinadas com 3-9 folíolos sésseis por pina, o que dá nome à espécie (Figura 1F). As flores possuem corola tubular e campanulada acima de um tubo basal estreito de coloração magenta com lobos azulados (Figuras 2F, G). O estaminódio, o ovário e o fruto são como os de *J. rufa*, embora ovário e fruto possuam dimensões menores (Figura 1F). A espécie ocorre em cerrado sentido restrito e campo cerrado e é conhecida apenas para a Serra do Cipó, Cadeia do Espinhaço, MG, e para a Serra dos Cristais e Serra Dourada, GO (Gentry 1992).

O trabalho de campo com *J. paucifoliolata* foi realizado em março de 2007, no final da estação chuvosa, em duas populações na região da Serra do Cipó, Cadeia do Espinhaço, MG. A primeira população ocorre ao longo de uma trilha dentro do Parque Nacional da Serra do Cipó (PNSC), MG (de 19º18’18”S e 43º36’16”W até 19º22’24”S e 43º36’45”W), onde foram estudados 26 indivíduos (Figura 1G). A segunda população ocorre em área de pastagem circundada por vegetação nativa nos arredores do Parque (19º18’18,6”S e 43º36’13,3”W), onde foram estudados 89 indivíduos (Figura 1H). A região da Serra do Cipó é caracterizada por elevadas altitudes, atingindo cerca de 1600m, onde predominam a vegetação de cerrado sentido restrito e principalmente a de campos rupestres. O material testemunho encontra-se depositado no *Herbarium Uberlandense* (HUFU 44911 e HUFU 47292). A identificação do material Botânico foi gentilmente confirmada pela especialista Dra. L. G. Lohmann.

Biologia floral - A contagem do número de flores por inflorescência foi realizada em oito inflorescências de diferentes indivíduos de *J. rufa* e três inflorescências de diferentes indivíduos de *J. paucifoliolata.* Para a análise dos eventos florais foram ensacados, com sacos de organza, 10 botões em pré-antese de cinco indivíduos diferentes de cada espécie, sendo dois em cada indivíduo. Ensacar os botões florais para estas análises possibilitou a observação de flores sem a interferência de herbívoros e polinizadores. As observações foram realizadas em três dias consecutivos, acompanhando o comportamento de cada flor a partir do início da antese. Foram avaliados o horário de abertura da flor, o início da produção de odor, a coloração das anteras e estaminódio, a sensitividade do estigma como indicativo de receptividade estigmática, e a duração da antese. Os estaminódios e os demais verticilos florais de cinco flores foram isolados em diferentes frascos para a análise da produção de odor.

A viabilidade polínica foi estimada através da coloração com Carmim Acético, foram considerados grãos inviáveis aqueles com tamanho reduzido, ausência de citoplasma ou em fase de tétrade de micrósporos (Dafni *et al.* 2005). Para isso, foram utilizados 10 botões em pré-antese coletados de diferentes indivíduos e armazenados em etanol 70%, retirando-se uma antera de cada. Foram montadas lâminas com uma gota de solução aquosa de glicerol 50% e uma gota de Carmim Acético onde foi colocado todo o conteúdo da antera. A lâmina foi observada sob microscópio óptico Olympus BX51 e os primeiros 300 grãos de pólen observados foram avaliados por antera.

A razão pólen/óvulo foi obtida através da contagem do número de óvulos e pelo número estimado de grãos de pólen por flor (Cruden 1977). Para estimar o número de grãos de pólen foram utilizados 10 botões em pré-antese coletados de diferentes indivíduos e armazenados em etanol 70%, retirando-se duas anteras de cada botão. Todo o conteúdo das anteras foi misturado a uma solução aquosa de 1ml de glicerol 50%. Após ter sido homogeneizada, a solução foi colocada em Câmara de Neubauer (Dafni *et al.* 2005) e a contagem feita sob microscópio óptico Olympus BX51. Para a contagem do número de óvulos por ovário, foram dissecados, sob microscópio estereoscópico Olympus SZX12, 88 ovários de *J. rufa* e 69 de *J. paucifoliolata*, coletados em pelo menos cinco indivíduos diferentes e armazenados em etanol 70% ou fixados em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump, 1976) em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2.

Para as medições de volume e concentração de néctar foram ensacados, com sacos de organza, 28 botões em pré-antese de cinco indivíduos diferentes de *J. rufa* (aproximadamente 6 flores por indivíduo). As medições de volume e concentração de néctar foram feitas em três intervalos diferentes do dia, observando-se aproximadamente dez flores por intervalo. Já para *J. paucifoliolata*, foram ensacados 40 botões em pré-antese de 19 indivíduos diferentes (aproximadamente 2 flores por indivíduo). As medições foram feitas em flores de primeiro dia, nos mesmos intervalos que para *J. rufa*, e em flores de segundo dia no final da manhã, também observando-se dez flores neste intervalo. Para estimar o volume de néctar produzido foram utilizados microcapilares de 10 microlitros e para se estimar a concentração do néctar utilizou-se refratômetro de mão para medição de açúcares solúveis Eclipse, com escala de 1% (Kearns & Inouye 1993).

Visitantes florais - Os visitantes florais em populações de *J. rufa* e *J. paucifoliolata* foram observados durante quatro dias consecutivos de 7:00 às 17:00 h, perfazendo cerca de 30 horas de observação em cada espécie. A observação dos visitantes florais foi realizada em pelo menos vinte indivíduos de cada espécie. Realizaram-se rodízios de 30 a 60 minutos de

observação entre os indivíduos, mas como alguns ocorrem lado a lado, mais de um indivíduo pode ter sido observado ao mesmo tempo. As seções de observação foram separadas em cinco intervalos de duas horas cada. Visitantes florais diferentes de abelhas foram observados, mas suas visitas não foram quantificadas.

O comportamento e o número de visitas das abelhas foram registrados e a frequência de visitação às flores foi calculada por espécie (número de visitas/hora). Foram considerados pilhadores de néctar aqueles visitantes que não penetraram o tubo da corola e precisaram perfurar a base da flor, ou utilizar as perfurações já realizadas por outros visitantes, para atingirem a câmara nectarífera. Foram considerados polinizadores ocasionais aqueles que penetraram o tubo da corola e realizaram coleta de néctar ou pólen, mas que devido ao seu tamanho reduzido, apenas ocasionalmente tocaram pistilo e anteras. Já os polinizadores efetivos penetraram no tubo da corola em busca de néctar, e tocaram pistilo e anteras todas as vezes que visitaram a flor. Apenas o primeiro indivíduo observado de cada espécie de abelha foi coletado, asfixiado com éter, montado, etiquetado e depositado na coleção entomológica do Instituto de Biologia da UFU. Os demais indivíduos observados no campo foram identificados por comparação e a identificação das abelhas capturadas foi confirmada pelos especialistas Ms. Leonardo Correia da Rocha, Dra. Cláudia Inês Silva, Dra. Solange Cristina Augusto e Dr. Fernando Silveira.

Sistema reprodutivo - Para as polinizações experimentais, as inflorescências contendo apenas botões florais foram ensacadas com sacos de organza para excluir os potenciais polinizadores. Posteriormente, foram realizadas autopolinizações e polinizações cruzadas manuais em flores de primeiro dia, tendo sido emasculadas antes do processo de polinização. Em autopolinizações utilizou-se o pólen da mesma flor polinizada e em polinizações cruzadas utilizou-se o pólen de indivíduos distantes, pelo menos, 10m dos indivíduos polinizados. Alguns botões em pré-antese ensacados foram apenas marcados para checar a ocorrência de autopolinização espontânea e outros foram emasculados antes de serem reensacados (teste para apomixia autônoma). Após a queda da corola das flores que passaram por polinizações experimentais os sacos de organza foram retirados das inflorescências. A produção natural de frutos foi monitorada através de botões marcados, mas não ensacados. O desenvolvimento dos frutos foi monitorado nos dois primeiros meses após a polinização para as duas espécies, sendo, posteriormente, feita uma avaliação depois de três meses para *J. paucifoliolata* e avaliações de dois em dois meses para *J. rufa* até a maturação dos seus frutos.

O índice de autoincompatibilidade (ISI) foi determinado através da razão entre a produção de frutos através de autopolinizações sobre a produção por polinizações cruzadas

(Bullock 1985). Foi determinada a razão entre a produção natural de frutos e a produção de frutos provenientes de polinizações cruzadas como uma estimativa de eficácia reprodutiva (Ruiz & Arroyo 1978). A estimativa do número de sementes por fruto foi obtida a partir de frutos provenientes de polinizações naturais em diferentes indivíduos, sendo 15 frutos de *J. rufa* e 6 de *J. paucifoliolata*.

Para a análise do crescimento *in situ* dos tubos polínicos, cinco pistilos de autopolinizações e cinco pistilos de polinizações cruzadas adicionais foram coletados de diferentes indivíduos, 24, 48 e 72 horas após a polinização em *J. rufa* e 12, 24 e 36 horas após a polinização em *J. paucifoliolata*, os quais foram imediatamente armazenados em etanol 70%. Os pistilos foram amolecidos em solução aquosa de NaOH 9N em estufa a cerca de 46ºC por 15 minutos. Posteriormente, foram lavados em água corrente, corados com solução aquosa de azul de anilina (adaptado de Martin 1959) e esmagados para que fosse feita a análise sob microscópio óptico de fluorescência Zeiss Axioplan. Durante a análise, foi registrado para cada pistilo se havia grãos de pólen germinando, e se os tubos polínicos atingiam o ovário e penetravam óvulos. A fim de verificar a proporção de polinizações naturais nas populações, 38 pistilos adicionais de flores de segundo dia de *J. rufa* e 20 pistilos de *J. paucifoliolata* foram coletados ao acaso para a análise do crescimento do tubos polínicos com o mesmo método utilizado para os pistilos polinizados experimentalmente. Quando grãos de pólen foram observados germinando no pistilo considerou-se que houve sucesso na polinização natural.

Foram realizadas medições de altura e largura em ovários de pistilos provenientes de autopolinizações e polinizações cruzadas, os quais foram coletados 24, 48, 72 e 96 horas após a polinização em *J. paucifoliolata* e *J. rufa*, e também 120 horas após a polinização na última espécie. Foram analisados cinco pistilos por tratamento e por intervalo em *J. paucifoliolata* e de cinco a seis pistilos em *J. rufa*, enquanto foram avaliados três pistilos de autopolinizações e quatro pistilos de polinização cruzada 120 horas após a polinização em *J. rufa*. Todos os pistilos foram fixados em solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% (McDowell & Trump, 1976) em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2, e medidos com paquímetro digital Digimess.

O número de flores por inflorescência entre as duas espécies foi comparado utilizando-se o teste t após a verificação da normalidade dos dados (Lilliefors Probability $p>0,05$) (SPSS 2000). As comparações entre as duas espécies e os intervalos de análise quanto à concentração e ao volume de néctar, bem como entre os tratamentos e os intervalos após a polinização quanto à altura e largura dos ovários foram realizadas utilizando-se

ANOVA de dois fatores, onde o teste de Tukey foi utilizado para comparações *a posteriori* (Ferreira 2000). A normalidade não foi testada para a realização de ANOVA de dois fatores.

Resultados

Biologia floral - O número médio de flores por inflorescência foi mais de cinco vezes maior em *Jacaranda rufa* que em *J. paucifoliolata* (t=-2,87, df=9, p=0,019) (Tabela 1). A abertura das flores de *J. rufa* ocorreu durante o dia em diferentes horários, sendo mais frequente no início da manhã (Tabela 1, Figuras 2A, B). O início da abertura das flores de *J. paucifoliolata* foi predominantemente no final da tarde, de forma que praticamente todas as flores apresentaram corola totalmente distendida, emissão de odor e estigma receptivo no início da manhã (Tabela 1, Figuras 2F, G). Em *J. paucifoliolata* a antese durou o dobro do tempo do que em *J. rufa* (Tabela 1). Os estaminódios subexertos (Figuras 2C, G) tornam-se escurecidos como os estames e, quando isolados, concentraram um odor adocicado bem mais intenso que o dos outros verticilos florais. A produção de odor e de néctar de *J. paucifoliolata* cessou no primeiro dia de antese (Tabela 1, Figura 3). Os estigmas de ambas as espécies permaneceram abertos e sensitivos durante toda a antese (Tabela 1), mas a abertura entre os lobos aumentou nas primeiras horas do dia. A viabilidade polínica nas duas espécies foi alta, e a razão pólen óvulo correspondeu à autogamia facultativa em *J. rufa* e à xenogamia facultativa em *J. paucifoliolata* (Tabela 1), segundo a classificação de Cruden (1977).

O volume acumulado de néctar em *J. rufa* foi crescente ao longo do dia (Figura 3), enquanto o de *J. paucifoliolata* aumentou apenas do primeiro para o segundo intervalo de analise (Figura 3), de forma que *J. rufa* apresentou volume de néctar acumulado superior ao observado em *J. paucifoliolata* no terceiro intervalo de análise (Figura 3) (teste de Tukey, $p<0,05$) (espécie: $F_{1,24}=9,720$, $p=0,005$; intervalos: $F_{2,24}=18,939$, $p<0,001$; espécie x intervalos: $F_{2,24}=3,888$, $p=0,034$). Em *Jacaranda paucifoliolata* o volume de néctar acumulado diminuiu do final do primeiro dia para o segundo dia de antese (Figura 3). Não houve interação entre espécies e intervalos de análise para a análise de concentração média de açúcares solúveis no néctar (espécie: $F_{1,24}=42,436$, $p<0,001$; intervalos: $F_{2,24}=0,097$, $p=0,908$; espécie x intervalos: $F_{2,24}=0,405$, $p=0,672$), a qual permaneceu constante durante a antese para as duas espécies e foi maior para *J. rufa* que para *J. paucifoliolata* (teste de Tukey, $p<0,05$) (Figura 3).

Visitantes florais - A frequência de visitas às flores de *J. rufa* foi mais de dez vezes superior que às flores de *J. paucifoliolata* (Tabelas 2 e 3). As maiores frequências de visitação

Tabela 1: Características da biologia floral de *Jacaranda rufa* e de *J. paucifoliolata*.

Característica	***J. rufa***	***J. paucifoliolata***
Nº médio flores/inflorescência (± DP)	325,5 (± 160,7) amplitude 90-500	50,0 (± 18,7) amplitude 30-67
Horário de abertura das flores	7:00-10:00h	17:30-8:30h
Produção de odor	8:30h-final da antese	8:30-15:30h
Produção de néctar	8:00h-final da antese	8:00-12:00h
Receptividade estigmática	durante toda a antese	durante toda a antese
Escurecimento das anteras	a partir de 10:00h	a partir de 15:30h
Duração da antese	cerca de 24 horas	cerca de 48 horas
Viabilidade polínica (%)	87,1% (± 8,7)	80,5% (± 16,3)
Nº médio grãos de pólen/flor (± DP)	55520 (± 36267,8)	44500 (± 8668,5)
Nº médio óvulos/ovário (± DP)	144,1 (± 25,0)	54,2 (± 12,7)
Razão pólen/óvulo	385,4	820,6

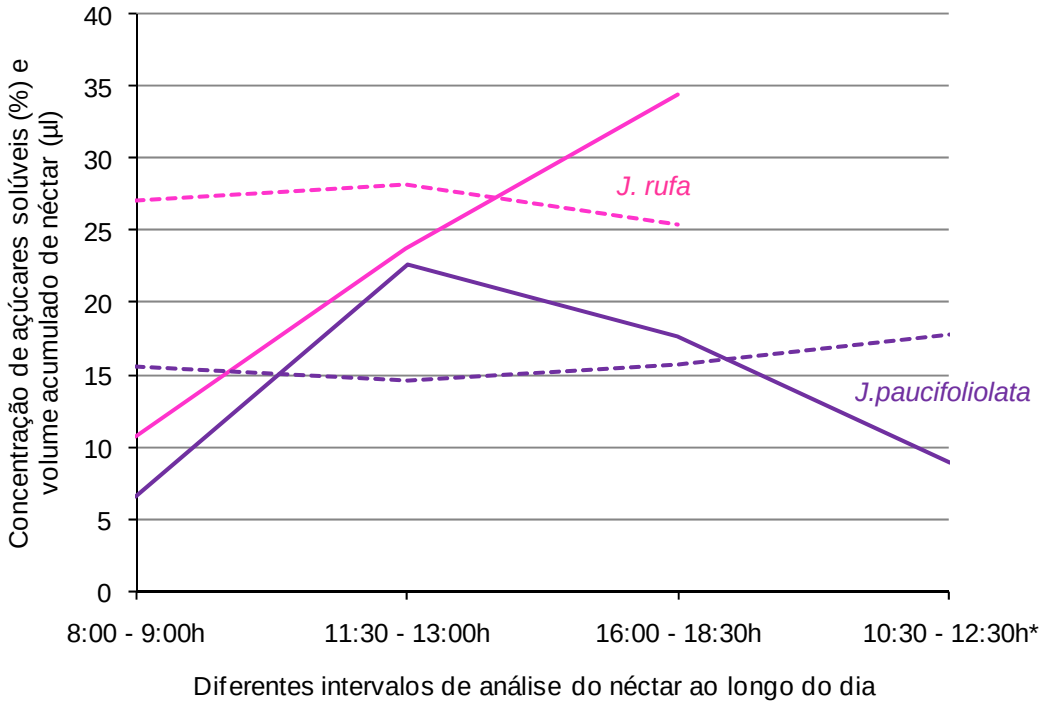

Figura 3. Concentração média de açucares solúveis (%) e volume médio do néctar acumulado (µl), em diferentes intervalos do dia em *Jacaranda rufa* e *J. paucifoliolata*. As linhas inteiras representam o volume do néctar e as pontilhadas representam a concentração. *Segundo dia de antese.

Tabela 2: Frequência de visitação de flores por abelhas em uma população de *Jacaranda rufa* do Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, GO. PE=polinizador efetivo; PI=pilhador de néctar; PO=polinizador ocasional.

Espécie		**Comportamento**	**Nº de visitas por hora em diferentes intervalos do dia (nº total de visitas)**					**Total de visitas (total 31h)**
			7:00-9:00h (total 6h)	9:00-11:00h (total 10h)	11:00-13:00h (total 5h)	13:00-15:00h (total 4h)	15:00-17:00h (total 6h)	
Andrenidae								
	Oxaea flavescens Klug, 1807	PI	14,17 (85)	19,9 (199)	20 (100)	38 (152)	0 (0)	**17,29 (536)**
Apidae								
Apini	*Apis mellifera* Linnaeus 1758	PO	0,17 (1)	0 (0)	0 (0)	1,25 (5)	0 (0)	**0,19 (6)**
Centridini	*Centris (Melacentris) mocsaryi* Friese, 1899	PE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,25 (1)	0 (0)	**0,03 (1)**
	Epicharis (Epicharana) flava Friese, 1900	PE	2,17 (13)	1,8 (18)	4 (20)	0,25 (1)	1 (6)	**1,87 (58)**
	Epicharis (Epicharis) bicolor Smith, 1874	PE	0 (0)	0 (0)	0,6 (3)	0 (0)	0 (0)	**0,1 (3)**
	Epicharis (Epicharitides) iheringi Friese, 1899	PE	0 (0)	0,2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,06 (2)**
	Epicharis (Epicharoides) abofasciata Smith, 1874	PE	0,17 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,03 (1)**
Euglossini	*Euglossa (Euglossa) melanotricha* Moure, 1967	PE	0,33 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,06 (2)**
	Euglossa (Euglossa) securigera Dressler, 1982	PE	0,17 (1)	6,3 (63)	1,8 (9)	0 (0)	0 (0)	**2,35 (73)**
	Euglossa (Glossura) imperialis Cockerell, 1922	PE	0 (0)	1 (10)	0 (0)	0,5 (2)	0 (0)	**0,39 (12)**
	Eulaema (Apeulaema) nigrita Lepeletier, 1841	PE	1 (6)	1,7 (17)	4,4 (22)	2,25 (9)	0,67 (4)	**1,87 (58)**
Exomalopsini	*Exomalopsis (Exomalopsis) fulvofasciata* Smith, 1879	PE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,17 (1)	**0,03 (1)**
Meliponini	*Trigona spinips* Fabricius, 1793	PI	0,33 (2)	1,2 (12)	0,8 (4)	0,75 (3)	0,33 (2)	**0,74 (23)**
Xylocopini	*Ceratina (Crewella) sericea* Friese, 1910	PO	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,33 (2)	**0,06 (2)**
	Ceratina (Crewella) sp.	PO	1,33 (8)	14,4 (144)	2,6 (13)	4,5 (18)	1,17 (7)	**6,13 (190)**
	Xylocopa (Schonnherria) frontalis Olivier, 1789	PI	0 (0)	0,5 (5)	4,4 (22)	0 (0)	0 (0)	**0,87 (27)**
	Xylocopa (Schonnherria) grisescens Lepeletier, 1841	PI	0 (0)	20,1 (201)	0 (0)	17 (68)	0 (0)	**8,68 (269)**
	Xylocopa (Schonnherria) macrops Lepeletier, 1841	PI	0 (0)	0,2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	**0,06 (2)**
Halictidae								
Augochlorini	*Augochloropsis* sp.	PI	0 (0)	0 (0)	0,8 (4)	0 (0)	0 (0)	**0,13 (4)**
	Pseudaugochlora graminea Fabricius 1804	PI	0 (0)	4,5 (45)	0,8 (4)	5 (20)	0,5 (3)	**2,32 (72)**
Megachilidae								
Anthidiini	*Epanthidium tigrinum* Schrottky, 1905	PI	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,33 (2)	**0,06 (2)**
-------	sp1.	PI	0 (0)	1 (10)	7 (35)	0 (0)	0 (0)	**1,45 (45)**
Total			**19,83 (119)**	**72,8 (728)**	**47,2 (236)**	**69,75 (279)**	**4,5 (27)**	**44,81 (1389)**

Tabela 3: Frequência de visitação de flores por abelhas em uma população de *Jacaranda paucifoliolata* da Serra do Cipó, MG. PE=polinizador efetivo; PI=pilhador de néctar; PO=polinizador ocasional.

Espécie		**Comportamento**	**Nº de visitas por hora em diferentes intervalos do dia (nº total de visitas)**					**Total de visitas (total 29h 15min)**
			07:00-09:00h (total 3h 05min)	09:00-11:00h (total 4h 30min)	11:00-13:00h (total 5h 55min)	13:00-15:00h (total 6h 37min)	15:00-17:00h (total 9h 08min)	
Andrenidae								
	Oxaea flavescens Klug, 1807	PI	0,65 (2)	1,33 (6)	0,68 (4)	3,32 (22)	0,77 (7)	**1,4 (41)**
Apidae								
Centridini	*Epicharis (Epicharis) bicolor* Smith, 1874	PE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,15 (1)	0 (0)	**0,03 (1)**
Euglossini	*Euglossa (Euglossa) melanotricha* Moure, 1967	PE	2,6 (8)	1,55 (7)	0,34 (2)	1,36 (9)	0 (0)	**0,89 (26)**
	Eulaema (Apeulaema) nigrita Lepeletier, 1841	PE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,6 (4)	0 (0)	**0,14 (4)**
Meliponini	*Trigona spinips* Fabricius, 1793	PI	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,11 (1)	**0,03 (1)**
	sp1.	PE	0 (0)	0 (0)	0,34 (2)	0 (0)	0 (0)	**0,07 (2)**
Xylocopini	*Ceratina* sp.1	PO	0 (0)	0 (0)	0,17 (1)	0,3 (2)	0 (0)	**0,1 (3)**
	Ceratina sp.2	PO	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,15 (1)	0 (0)	**0,03 (1)**
	Xylocopa sp.	PI	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,45 (3)	0,66 (6)	**0,31 (9)**
Halictidae								
	sp1.	PI	0 (0)	0 (0)	1,86 (11)	0,75 (5)	0 (0)	**0,55 (16)**
Total			**3,25 (10)**	**2,89 (13)**	**3,38 (20)**	**7,1 (47)**	**1,53 (14)**	**3,55 (104)**

às flores de *J. rufa* ocorreram de 9:00 às 11:00h e de 13:00 às 15:00h (Tabela 2) e de *J. paucifoliolata*, de 13:00 às 15:00h (Tabela 3).

Foram registradas 22 espécies de abelhas visitando as flores de *J. rufa*, sendo nove pilhadoras de néctar, três polinizadoras ocasionais e dez polinizadoras efetivas (Tabela 2). Em *J. paucifoliolata*, foram registradas 11 espécies de abelhas visitando as flores, com quatro pilhadoras de néctar, duas polinizadoras ocasionais e cinco polinizadoras efetivas (Tabela 3). O grupo de abelhas pilhadoras de néctar foi o mais frequente nas duas espécies, com 70% e 59% das visitações às flores de *J. rufa* e *J. paucifoliolata*, respectivamente (Tabelas 2 e 3). Dentre elas, *Oxaea flavescens* (Figura 4A) foi o visitante mais frequente em ambas as espécies, sendo seguida por *Xylocopa grisescens* (Figura 4B) em *J. rufa*, na qual *Psudaugochlora graminea* (Figura 4C), também pilhadora de néctar, ainda foi a quinta espécie mais frequente (Tabelas 2 e 3). Apesar do menor número de espécies de abelhas polinizadoras efetivas de *J. paucifoliolata*, elas foram responsáveis por cerca de 35% das visitas, enquanto em *J. rufa*, foram responsáveis por 15% das visitas (Tabelas 2 e 3). Em *J. rufa*, a taxa de visitação por polinizadores ocasionais também está em torno de 15%, sendo bem menor em *J. paucifoliolata*, 3,5% (Tabelas 2 e 3). *Ceratina (Crewella)* sp., um polinizador ocasional, foi o terceiro visitante mais frequente em *J. rufa* (Tabela 2, Figura 4D). Os polinizadores efetivos que mais visitaram as flores de *J. rufa* foram *Euglossa securigera* (Figura 4E), *Eulaema nigrita* e *Epicharis flava* (Figura 4F), respectivamente (Tabela 2). Em *J. paucifoliolata*, o principal polinizador efetivo foi *Euglossa melanotricha* (Tabela 3). Um mesmo indivíduo de *Oxaea flavescens* chegou a realizar mais de 30 visitas consecutivas em um só indivíduo de *J. rufa*, embora os polinizadores efetivos também tenham sido observados realizando mais de uma visita consecutiva por planta nesta espécie.

Também foram observadas duas espécies não identificadas de beija-flores pilhando néctar em *J. rufa* e uma em *J. paucifoliolata*. Outros visitantes florais como Coleoptera, Ortoptera, fases juvenis de insetos (larvas) e aranhas também foram observados nas flores das espécies estudadas e foram mais frequentes em *J. rufa*. Estes visitantes não pareciam ter nenhum tipo de especialização para coleta de pólen ou néctar, podendo consumir qualquer parte floral ou ainda utilizar as flores como abrigo ou como local para apreensão de suas presas, como no caso das aranhas.

Sistema reprodutivo - As duas espécies estudadas são autoincompatíveis. Tanto em *J. rufa* quanto em *J. paucifoliolata* nenhuma das flores emasculadas e dos tratamentos de autopolinização manual e espontânea desenvolveram frutos (Tabelas 4 e 5), de forma que o ISI foi igual a zero para ambas as espécies. Em *J. rufa*, 19 dias após última polinização

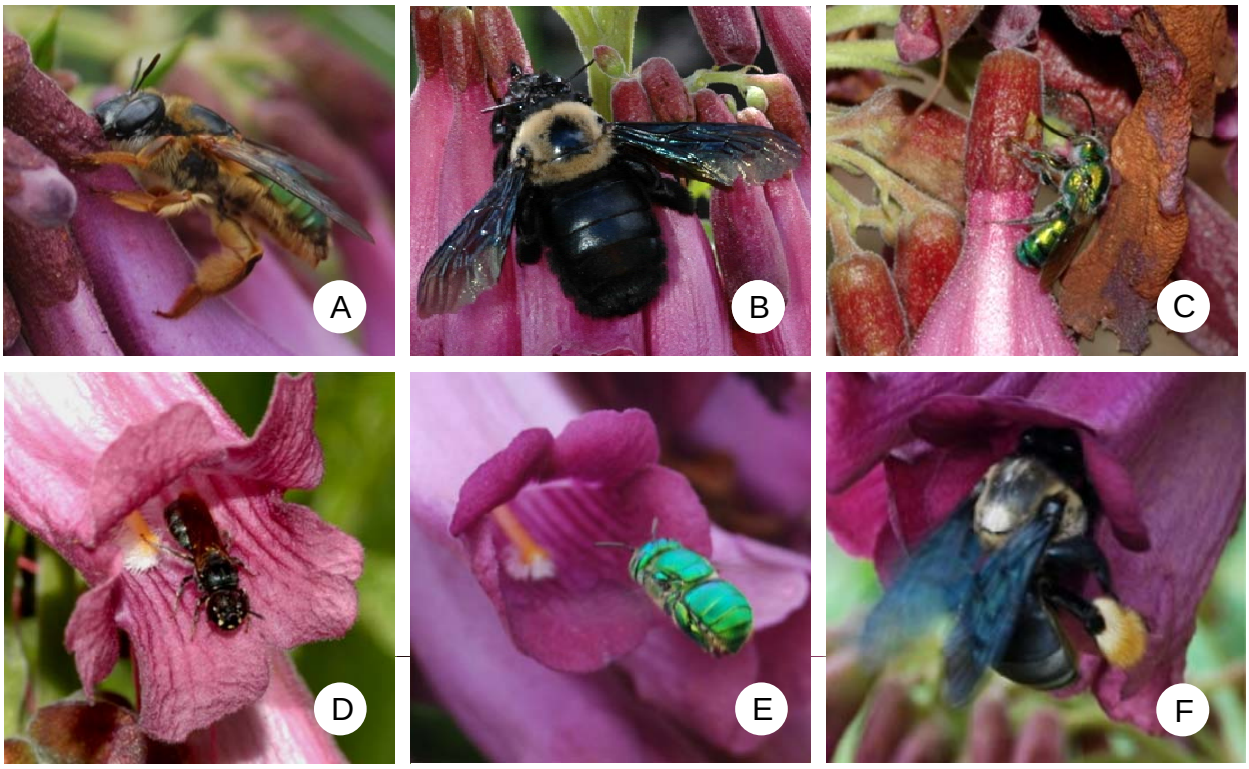

Figura 4. Abelhas visitando as flores de *J. rufa*. A-C. Pilhadores de néctar. A. *Oxaea flavescens.* B. *Xylocopa grisescens.* C. *Pseudaugochlora graminea*. D. Polinizador ocasional. *Ceratina* sp. tocando no estaminódio ao sair da flor. E, F. Polinizadores efetivos. E. *Euglossa cordata* entrando no tubo da corola. F. *Epicharis flava* entrando no tubo da corola. Foto B: Paulo Eugênio A. M. Oliveira.

Tabela 4: Polinizações experimentais e desenvolvimento frutos em diferentes dias após a última polinização experimental em *Jacaranda rufa* no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, GO.

Dias após a polinização		**19 dias**	**51 dias**	**101 dias**
Polinizações experimentais	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Frutos (%)**
Autopolinização manual	73	2 (2,74%)	0 (0%)	0 (0%)
Polinização manual cruzada	74	18 (24,32%)	13 (17,57%)	10 (13,51%)
Autopolinização espontânea	88	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Flores emasculadas	88	2 (2,27%)	0 (0%)	0 (0%)
Polinização natural (controle)	88	8 (9,1%)	3 (3,41%)	2 (2,27%)

Tabela 5: Polinizações experimentais e desenvolvimento frutos em diferentes dias após a última polinização experimental em *Jacaranda paucifoliolata* em duas populações na Serra do Cipó, MG. Com 61 dias, foram quantificados os frutos desenvolvidos e os demais ovários que permaneceram presos à planta mãe sem desenvolvimento aparente.

Dias após a polinização		**27 dias**	**61 dias**	**167 dias**	**167 dias**
Polinizações experimentais	**Nº Flores**	**Nº Frutos (%)**	**Nº Frutos (%)- Nº ovários persistentes (% frutos e ovários)**	**Nº Frutos (%)**	**Pop. 1* Nº Flores (Nº Frutos-%)**
Autopolinização manual	102	54 (52,9%)	0 (0%)-21 (20,6%)	0 (0%)	50 (0-0%)
Polinização manual cruzada	101	75 (74,25%)	26 (25,74%)-22 (47,5%)	10 (9,9%)	51 (10-19,6%)
Autopolinização espontânea	100	63 (63%)	0 (0%)-19 (19%)	0 (0%)	100 (0-0%)
Flores emasculadas	136	63 (46,32%)	0 (0%)-42 (30,9%)	0 (0%)	54 (0-0%)
Polinização natural (controle)	146	91 (62,33%)	22 (15,07%)-44 (45,2%)	1 (0,68%)	35 (1-2,86%)

*No último dia de observação, apenas a população localizada dentro do Parque ainda apresentava frutos, por isso os resultados dessa população são apresentados separadamente para que não ocorra uma interpretação errônea da frutificação.

experimental, apenas frutos de polinizações naturais e polinizações cruzadas manuais se desenvolviam, enquanto um dos pistilos de autopolinização não estava sadio (galhado) e o outro, bem como os dois de flores emasculadas eram ovários não desenvolvidos (Tabela 4). Cinquenta e um dias após a polinização, apenas frutos de polinizações naturais e polinizações cruzadas manuais permaneceram nas plantas. Em *J. paucifoliolata* uma grande porcentagem de pistilos de todos os tratamentos persistiram nas plantas quando avaliados 27 e 61 dias após a polinização (Tabelas 4 e 5). Entretanto, foi possível discernir claramente entre os frutos desenvolvidos e os ovários inalterados morfologicamente na avaliação feita 61 dias após a polinização, quando apenas frutos de polinizações cruzadas manuais e polinizações naturais estavam se desenvolvendo (Tabela 5).

Só foi possível estimar o número de frutos que atingiram a maturidade em uma das populações de *J. paucifoliolata*. Como na população localizada na área de pastagem não havia mais vestígios sequer das cápsulas dos frutos 167 dias após a polinização, acredita-se que os frutos tenham sido predados (Tabela 5). Na população do PNSC (Pop. 1), a porcentagem de frutos desenvolvidos 61 dias após a polinização é igual à de frutos maduros observada 167 dias após a polinização (dados não apresentados). Na análise do desenvolvimento dos frutos cerca de dois meses após as polinizações para as duas espécies (51 e 61 dias após as polinizações experimentais), quando os frutos de todas as populações se desenvolviam normalmente, *J. paucifoliolata* apresentou frutificação superior à de *J. rufa* nos pistilos que se desenvolveram a partir de polinizações naturais (Tabelas 4 e 5). O cálculo da eficácia reprodutiva foi de 0,19 em *J. rufa* e de 0,58 em *J. paucifoliolata* dois meses após o último experimento de polinização controlada, e de 0,17 e 0,15, 101 e 167 dias após a polinizações para as duas espécies, respectivamente (Tabelas 4 e 5). O número médio sementes por fruto foi de 85,5 (±26,2) em *J. rufa* e de 34,7 (± 4,6) em *J. paucifoliolata*. Em *J. rufa* e em *J. paucifoliolata*, 59,3% e 63,9% dos óvulos foram convertidos em sementes nas polinizações naturais, respectivamente (Figura 5 A, D; ver Tabela 1 para número de óvulos por ovário).

A frequência de polinizações naturais, estimada através da germinação dos grãos de pólen em pistilos coletados ao acaso (Figuras 5B, C), foi de 60,0% em *J. paucifoliolata* e de 84,2% em *J. rufa.* Tanto pistilos de autopolinizações como pistilos de polinizações cruzadas manuais tiveram grãos tubos polínicos alcançando o ovário e penetrando os óvulos 12 horas após a polinização em *J. paucifoliolata* e 48 horas em *J. rufa*. Em 24 horas após a polinização para *J. paucifoliolata* e 48 horas após a polinização para *J. rufa*, de 60 a 80% dos pistilos de ambos os tratamentos tinham tubos polínicos alcançando o ovário e penetrando os óvulos nas duas espécies (Figuras 5E, F). Embora o crescimento dos tubos polínicos em *J. rufa* seja mais

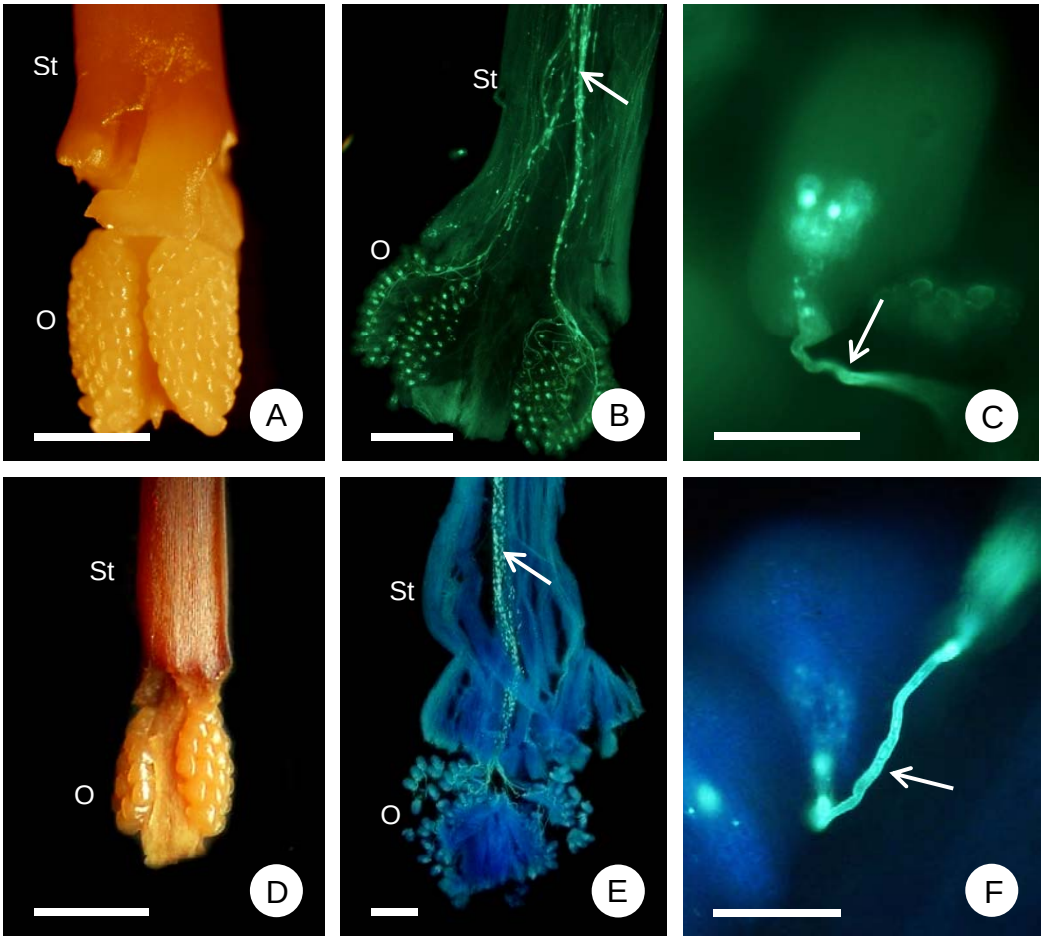

Figura 5. Pistilos observados sob estereomicroscópio com a parede do ovário retirada (A, D), e pistilos observados sob microscópio de fluorescência corados com azul de anilina e esmagados entre lâmina e lamínula (B, C, E, F). A-C. *J. rufa*. D-F. *J. paucifoliolata*. B. Tubos polínicos crescendo no estilete e atingindo o ovário em pistilo de polinização natural. C. Tubo polínico penetrando óvulo em pistilo de polinização natural. E. Tubos polínicos crescendo no estilete e atingindo o ovário em pistilo coletado 24h após a polinização cruzada. F. Tubo polínico penetrando óvulo em pistilo coletado 36h após a autopolinização. St: estilete; O: ovário. As setas apontam os tubos polínicos. Barras=1mm (A, B, D, E), 0,1mm (C, F).

lento que em *J. paucifoliolata*, os grãos de pólen foram encontrados germinado no estigma e os tubos polínicos crescendo no estilete 24 horas após a polinização. Em *J. rufa* nenhum grão de pólen germinou em pistilos de polinização cruzada 72 horas a polinização. Em *J. paucifoliolata* nos intervalos de 24 e 36 horas após a polinização, de 40 a 60% dos pistilos autopolinizados tiveram tubos polínicos alcançando o ovário e penetrando os óvulos, enquanto 75 a 80% dos pistilos de polinizações cruzadas tiveram tubos polínicos alcançando o ovário.

Não houve diferença significativa na altura e largura dos ovários entre os tratamentos de autopolinização e polinização cruzada, nem entre os diferentes intervalos de análise após a polinização em *J. rufa* (teste de Tukey, $p<0,05$), sem interação entre os dois fatores (Altura - tratamentos: $F_{4,43}=2,634$, $p=0,112$; intervalos após a polinização: $F_{1,43}=2,685$, $p=0,044$; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{4,43}=0,208$, $p=0,933$; Largura - tratamentos: $F_{1,43}=0,149$, $p=0,701$; intervalos após a polinização: $F_{4,43}=1,705$, $p=0,166$; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{4,43}=0,887$, $p=0,480$).

Em *J. paucifoliolata*, a altura dos ovários não variou de acordo com o tratamento e variou entre os diferentes intervalos após a polinização, tendo aumentado de 48 para 96 horas após a polinização (teste de Tukey, $p<0,05$), sem interação entre os dois fatores (tratamentos: $F_{1,32}=1,372$, $p=0,250$; intervalos após a polinização: $F_{3,32}=8,105$, $p<0,001$; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{3,32}=0,902$, $p=0,451$). A largura dos ovários também não variou de acordo com os tratamentos, mas aumentou de 24 para 96 horas após a polinização (teste de Tukey, $p<0,05$), sem interação entre os dois fatores (tratamentos: $F_{1,32}=0,157$, $p=0,695$; intervalos após a polinização: $F_{3,32}=5,123$, $p=0,005$; tratamentos x intervalos após a polinização: $F_{3,32}=2,450$, $p=0,082$).

As flores que tiveram o ovário desenvolvido em fruto nas duas espécies apresentaram um cálice persistente que cobriu os frutos jovens nos estádios iniciais de desenvolvimento (Figura 2D). Em *J. rufa* um tipo de galha acometeu diversos frutos em desenvolvimento (Figuras 2E). Os frutos de ambas as espécies têm um período de maturação longo, com cerca de 9 meses em *J. rufa* (285 dias) e de cinco meses e meio (167 dias) em *J. paucifoliolata*, sendo que a época de dispersão das sementes verificada para as duas espécies ocorreu no mês de agosto de 2007.

Discussão

Os sistemas de polinização e reprodução de *Jacaranda rufa* e *J. paucifoliolata*

mostraram-se semelhantes aos observados para espécies arbóreas florestais de *Jacaranda* (Maués *et al.* 2008) e para as demais espécies arbóreas de Bignoniaceae (Bawa 1974, Bullock 1985, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Barros 2001, Somanathan & Borges 2001, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2004, 2005, Polatto & Alves Júnior 2009, Capítulo Introdutório, Capítulo 1), sendo polinizadas por abelhas e predominantemente autoestéreis. Dessa forma, o sistema reprodutivo destas espécies de *Jacaranda* parece não ter passado por modificações associadas à mudança de hábito ou habitat, mostrando-se extremamente conservado dentro da família. Embora o sistema reprodutivo tenha sido fundamentalmente similar entre as duas espécies estudadas e às demais espécies de Bignoniaceae, diferenças na biologia reprodutiva podem explicar diferenças observadas no sucesso reprodutivo de cada espécie.

Biologia floral e visitantes florais - A antese prolongada de *J. paucifoliolata* pode aumentar a atratividade das plantas para os polinizadores, visto que o número de flores por inflorescência é muito menor nesta espécie que em *J. rufa*. *Jacaranda racemosa* Cham. (Bittencourt Júnior & Semir 2006), *J. decurrens* Cham. (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007) e *J. oxyphylla* (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Guimarães *et al.* 2008) também possuem poucas flores por inflorescência e uma duração estendida de cerca de 48 horas, quando comparadas a espécies com um maior número de flores por inflorescência, como *J. caroba* (Vellozo) A. P. de Candolle (Vieira *et al.* 1992) e *J. copaia* (Aublet) D. Don (Maués *et al.* 2008), nas quais as flores duram cerca de 24 horas.

O volume de néctar acumulado ao final da antese em flores de *J. rufa* é semelhante ao encontrado para *J. rugosa* A. Gentry, em torno de 20 a 30 µl (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), e bastante elevado quando comparado ao volume acumulado em flores de outras espécies de *Jacaranda*, que fica em torno de 1µl a 6µl (Bittencourt Júnior & Semir 2006, Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008), não sendo mensurável em algumas situações (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007). Como *J. rugosa* possui poucas flores por inflorescência (Gentry 1992), e suas flores duram apenas um dia (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), a planta parece investir mais na produção de néctar que em sua atratividade vinculada ao número de flores por planta, o que pode ter sido influenciado pelo habitat aberto em ocorre, a Caatinga. Uma estratégia diferente parece ocorrer em *J. copaia*, típica de florestas tropicais úmidas, pois possui flores que duram apenas 24 horas, mas que produzem um reduzido volume de néctar (cerca de 1µl) (Maués *et al.* 2008). A exposição de um grande número de flores para a atração dos polinizadores nesta espécie (Maués *et al.* 2008) pode justificar a curta duração da flor e pequeno volume de néctar, que estimulariam a

realização de polinizações cruzadas.

Em *J. paucifoliolata*, logo após o período de pico da produção de néctar, ocorreu o maior número de visitas às flores, de 13:00 às15:00h, e em *J. rufa*, que produz néctar ao longo de todo o dia, o pico de visitações se estendeu de 9:00 às 15:00h, semelhante a *J. rugosa*, que possui o mesmo padrão de produção de néctar, com o pico de visitações de 9:00 às 12:00h (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). A predominância de abelhas da tribo Euglossini como polinizadoras efetivas foi observada para praticamente todas as espécies de *Jacaranda* investigadas até o presente (Vieira *et al*. 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Maués *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), sendo consideradas os polinizadores mais importantes para as espécies de Bignoniaceae (Gentry 1974). Entretanto, elevadas taxas de visitação em espécies de *Jacaranda* também foram registradas para Bombini (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), Centridini (Maués *et al.* 2008) e Megachilidae (Vieira *et al.* 1992). Embora os polinizadores efetivos desloquem-se grandes distâncias de uma planta para a outra, visitas consecutivas a flores da mesma inflorescência ou planta (geitonogamia) por este tipo de polinizador foram verificadas em *J. rufa*.

O estaminódio subexerto de *J. rufa* e de *J. paucifoliolata* foi a principal fonte de odor das flores, podendo servir como atrativo olfativo e visual para os visitantes, como observado em outras espécies de *Jacaranda* (Vieira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006), e confirmado pela diminuição das visitas às flores após a remoção do estaminódio (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). A presença de um estaminódio volumoso diminui o diâmetro útil da corola e pode fazer com que abelhas pequenas possam tocar mais facilmente os estames e o estigma (Vieira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Guimarães *et al.* 2008). Abelhas coletoras de néctar e pólen que são consideradas polinizadoras ocasionais, como *Apis mellifera*, *Ceratina* (*Crewella*) sp., *Exomalopsis fulvofasciata*, *Trigona spinipes*, *Augochloropsis* sp. e *Pseudaugochlora graminea*, podem realizar um grande número de polinizações. Como estas abelhas permanecem muito tempo em uma mesma flor e planta, elas favorecem a ocorrência de autopolinizações (Guimarães *et al.* 2008, Capítulo 5) e levam a uma menor eficácia reprodutiva.

A maior parte das visitas às flores nas duas espécies estudadas foi feita por pilhadores de néctar, o que reduz o volume de néctar disponível para os polinizadores e faz com que sua permanência nas flores seja menor (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Isso proporciona uma maior movimentação dos polinizadores entre flores e plantas em busca de mais néctar e aumenta as chances de realização de polinização cruzada (Vieira *et al.* 1992, Maloof 2001,

Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Em *J. rufa*, que possui um elevado número de flores por inflorescência e néctar abundante, a elevada frequência de visitas por pilhadores de néctar pode incrementar as polinizações cruzadas em suas populações. Embora em *J. rufa* e *J. paucifoliolata* tenham sido registrados beija-flores realizando visitas como pilhadores de néctar, em outras espécies de *Jacaranda* eles realizaram visitas legítimas às flores (Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008).

O número de visitas e a diversidade de visitantes florais superiores observados em *J. rufa* devem ocorrer devido à maior atratividade dessas plantas graças ao grande número de flores por inflorescência, como relatado para outras Bignoniaceae (Somanathan & Borges 2001, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007). A maior diversidade de abelhas em espécies de *Jacaranda* foi encontrada com 50 horas de observação em *J. copaia* (37 espécies), uma planta arbórea típica da Floresta Amazônica, a qual apresenta uma média de 96,4 flores por abertas por inflorescência (Maués *et al.* 2008), enquanto a menor diversidade foi encontrada com 220 horas de observação em *J. racemosa* (três espécies), um subarbusto típico de campos rupestres, que apresenta de uma a quatro flores abertas por inflorescência (Bittencourt Júnior & Semir 2006). Embora o maior número de flores atraia uma grande diversidade de visitantes florais e aumente o número de visitas às flores, aumentam também as chances de ocorrer geitonogamia, enquanto um menor número de flores favoreceria a ocorrência de polinizações cruzadas (Somanathan & Borges 2001).

Sistema reprodutivo - *Jacaranda rufa* e *J. paucifoliolata* parecem apresentar algum tipo de sistema autoincompatibilidade, como na maioria das espécies de Bignoniaceae investigadas até então (Gibbs 1990, Amaral 1992, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior *et al.* 2003, Bittencourt Júnior & Semir 2004, 2005, 2006, Capítulo Introdutório, Capítulos 1, 4 e 5). Embora algumas espécies de *Jacaranda* tenham se adaptado ao Cerrado na forma de arbustos e subarbustos, ocupando o estrato herbáceo-arbustivo que é predominantemente autofértil (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008), o gênero apresenta-se conservador quanto à manutenção do sistema de autoincompatibilidade, independente do habitat e da forma de vida a que a espécie esteja adaptada (Vieira *et al.* 1992, Bittencourt Júnior & Semir 2006, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). A razão pólen/óvulo que indica a ocorrência de autogamia facultativa em *J. rufa* e xenogamia facultativa em *J. paucifoliolata* (Cruden 1977) não corresponde aos resultados encontrados nas polinizações experimentais.

Entretanto, o caso de autofertilidade numa população de *J. oxyphylla* (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), e de autoincompatibilidade com formação de poucos frutos de

autopolinizações (de 2,5% a 6% de frutificação) em outra população de *J. oxyphylla* (Guimarães *et al.* 2008), numa população de *J. caroba* (Vieira *et al.* 1992), e uma de *J. racemosa* (Bittencourt Júnior & Semir 2006), demonstram que alguns indivíduos podem apresentar quebra no sistema de autoincompatibilidade. Embora as espécies que desenvolveram frutos a partir de autopolinizações sejam subarbustivas, aparentemente a adaptação ao estrato herbáceo-arbustivo não foi o fator determinante para o desenvolvimento de frutos a partir de autopolinizações, uma vez que *Jacaranda rufa* e *J. paucifoliolata*, além de outras espécies subarbustivas já investigadas para o gênero (Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Barbosa & Sazima 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), são estritamente autoincompatíveis.

Como o gênero *Jacaranda* é citologicamente muito estável, com número cromossômico diplóide de 2n=36 verificado na maior parte das espécies (Simmonds 1954, Mehra & Bawa 1969, Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998, Forni - Martins & Martins 2000, Capítulo 1), inclusive para as populações aqui estudadas, não parece que os eventos de quebra no sistema de autoincompatibilidade estejam relacionados à poliploidia como verificado para outras espécies da família (Piazzano 1998, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Capítulos 1, 2 e 3). Embora tenham sido detectadas sementes poliembriônicas em *J. cuspidifolia*, essas não parecem ser formadas por apomixia, devido à baixa frequência destas sementes (Mendes-Rodrigues, dados não publicados) e da autoincompatibilidade relatada para a espécie (N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados).

O crescimento dos tubos polínicos e a penetração de óvulos tanto em pistilos de polinização cruzada como em pistilos autopolinizados, com o posterior aborto dos pistilos autopolinizados, caracterizam a presença de um sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) nas espécies investigadas. O atraso na penetração de óvulos por tubos polínicos provenientes de autopolinizações em comparação aos de polinizações cruzadas observado em *J. racemosa* (Bittencourt Júnior & Semir 2006), pode ser um indicativo da atuação do LSI. Embora esse atraso no crescimento de tubos polínicos de autopolinizações não tenha sido detectado neste estudo, em *J. paucifoliolata* foi observada uma maior porcentagem dos pistilos de polinizações cruzadas com tubos polínicos que atingiram o ovário e penetram óvulos.

A queda uniforme e precoce dos pistilos de autopolinizações é considerada uma característica do sistema de autoincompatibilidade de ação tardia contrária ao processo de depressão endogâmica, no qual se esperaria um aborto gradual dos pistilos autopolinizados, com alguns deles possibilitando a formação de frutos com sementes viáveis (Seavey & Bawa

1986, Sage *et al.* 1994, Bittencourt Júnior 2003). O aborto uniforme dos pistilos parece ter sido o caso de *J. rufa* e de outras espécies de Bignoniaceae que possuem LSI (Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003, Capítulos 4 e 5). Por outro lado, o aborto gradual dos pistilos em *J. paucifoliolata*, pode gerar alguma suspeita sobre a ocorrência de depressão endogâmica nesta espécie. Entretanto, pistilos de todos os tratamentos permaneceram na planta sem que o ovário se desenvolvesse em fruto, indicando que este comportamento seja uma característica da espécie, independente do tratamento empregado.

A porcentagem de óvulos que se desenvolveu em sementes nas duas espécies indica que possa ter ocorrido a deposição de uma quantidade insuficiente de grãos de pólen no estigma, ou a deposição de grãos inviáveis que não germinem ou possam acarretar endosperma e embrião pouco viáveis que impeçam o desenvolvimento do óvulo em semente. Polinizações mistas poderiam gerar uma diminuição na taxa de conversão de óvulos em sementes devido à presença de óvulos autofecundados (Bertin & Sullivan 1988, Bianchi *et al.* 2005). A presença de polinizações mistas em condições naturais poderia ser uma das explicações para cerca de 40% dos óvulos não ser convertido em sementes em *J. rufa* e *J. paucifoliolata*. Por outro lado, a presença de óvulos com megagametófitos não reduzidos ou com alguma anomalia também pode trazer problemas para a conversão de óvulos em sementes, além da disponibilidade de recursos para o desenvolvimento de cada fruto poder não ser suficiente para que todos os óvulos sejam convertidos em sementes.

As maiores porcentagens de frutificação natural já relatadas para o gênero foram de 30,7% em *J. racemosa* (Bittencourt Júnior & Semir 2006) e de 18,1% em *J. caroba* (Vieira *et al.* 1992), de forma que a frutificação natural de *J. paucifoliolata*, analisada dois meses após a polinização, também pode ser considerada elevada. Isso pode estar relacionado a uma maior eficiência na realização de polinizações cruzadas causada pelo reduzido número de flores por inflorescência em *J. racemosa* (Bittencourt Júnior & Semir 2006) e *J. paucifoliolata*. As demais espécies de *Jacaranda* apresentam de 1,1% a 7,2% de frutos formados naturalmente (Guimarães *et al.* 2008, Maués *et al.* 2008, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009), percentual semelhante ao observado em *J. rufa*. A baixa frutificação em *J. oxyphylla* é reportada principalmente à baixa frequência de visitação por polinizadores (Guimarães *et al.* 2008) e em *J. rugosa* à predação dos ovários (Milet-Pinheiro & Schlindwein 2009). Em *J. copaia* (Maués *et al.* 2008) e *J. rufa* a baixa frutificação natural parece estar mais relacionada ao grande número de flores por planta, que leva a ocorrência de geitonogamia, além da escassez de recursos para suprir o desenvolvimento de um número tão elevado de frutos quanto o de flores.

Como a viabilidade polínica e a porcentagem de pistilos polinizados naturalmente foram elevadas, o motivo para a baixa frutificação natural em *J. rufa* pode ser mesmo a ocorrência de geitonogamia, como sugerido para *Heterophragma quadriloculare* K. Schum. (Somanathan & Borges 2001), ou polinizações mistas com elevada carga de auto pólen (Bertin & Sullivan 1988, Bianchi *et al.* 2005). Por outro lado, a frutificação em polinização cruzada manual também é reduzida e pode indicar uma limitação de recursos da planta mãe para o desenvolvimento de todos os pistilos devidamente polinizados em frutos (Stephenson 1981, Bawa & Webb 1984, Sutherland 1987, Correia *et al.* 2005). Além disso, podem ocorrer efeitos negativos da chuva sobre a polinização das espécies (Barbosa & Sazima 2008), podendo ser uma explicação para o caso de *J. rufa*, na qual nenhum grão de pólen germinou em pistilos coletados 72 horas após a polinização cruzada.

De forma geral, espécies subarbustivas que produzem mais flores e investem na atração de polinizadores, como *J. rufa*, têm uma eficácia reprodutiva menor que as subarbustivas com poucas flores, e semelhante àquela observada para árvores tropicais (Bawa 1974, Bullock 1985, Barros, 2001, Somanathan & Borges 2001, Bittencourt Júnior & Semir 2005, Maués *et al.* 2008, Polatto & Alves Júnior 2009). Embora a autofertilidade predomine no estrato herbáceo-arbustivo (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008), as espécies de *Jacaranda* e de outros gêneros de Bignoniaceae (Capítulos 4 e 5) adaptadas à forma de vida de subarbusto tendem a manter o sistema de autoincompatibilidade de ação tardia que predomina na família (Capítulo Introdutório, Capítulo 1). A adaptação dessas espécies à forma de vida subarbustiva, com a presença de um sistema subterrâneo muito desenvolvido que permite o rebrotamento após longos períodos de seca ou queimadas, deve ter favorecido a adaptação desses subarbustos ao Cerrado. Além disso, a ocorrência dessas plantas em ambientes abertos permite a visualização das flores pelos polinizadores, possibilitando a manutenção das polinizações cruzadas e do sistema de autoincompatibilidade nas espécies subarbustivas de Bignoniaceae.

Referências Bibliográficas

Allen, A. M. & Hiscock, S. J. 2008. Evolution and phylogeny of self-incompatibility systems in angiosperms. In: Franklin-Tong, V. (ed.). p. 73-102. **Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms.** Springer-Verlag, Berlin.

Amaral, M. E. C. 1992. Ecologia floral de dez espécies da Tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semidecídua no município de Campinas, SP. **Tese de Doutorado**,

Departamento de Ecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Barbosa, A. A. A. & Sazima, M. 2008. Biologia reprodutiva de plantas herbáceo-arbustivas de uma área de campo-sujo de Cerrado. In: Sano, S. M., Almeida, S. P. & Ribeiro, J. F. (eds.). p. 291-318. **Cerrado: Ecologia e Flora,** vol. 1. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, e Embrapa Cerrados, Planaltina.

Barringer, B. C. 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. **American Journal of Botany** 94: 1527-1533.

Barros, M. G. 2001. Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth & Hook and *T. ochracea* (Cham). Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 255-261.

Bawa, K. S. 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. **Evolution** 28:85-92.

Bawa, K. S. & Webb, C. J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. **American Journal of Botany** 71: 736-751.

Bawa, K. S., Bullock, S. H., Perry, D. R., Coville, R. E. & Grayum, M. H. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. **American Journal of Botany** 73: 346-356.

Bertin, R. I. & Sullivan, M. 1988. Pollen interference and cryptic self-fertility in *Campsis radicans*. **American Journal of Botany** 75:1140-1147.

Bianchi, M. B., Harris, S. A., Gibbs, P. E. & Prado, D. E. 2005. A study of the mating system in *Dolichandra cynanchoides* (Bignoniaceae): an Argentinian Chaco woodlands liane with a late-acting self-incompatibility. **Plant Systematics and Evolution** 251:173-181.

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2004. Pollination biology and breeding system of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae). **Plant Systematics and Evolution** 247:241-254.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2005. Late-acting self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). **International Journal of Plant Sciences** 166: 493-506.

Bittencourt Júnior, N. S. & Semir, J. 2006. Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). **Australian Journal of Botany** 54:315-324.

Bittencourt Júnior, N. S., Gibbs, P. E. & Semir, J. 2003. Histological study of post-pollination

events in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniacceae), a species with late-acting self incompatibility. **Annals of Botany** 91: 827-834.

Bullock, S. H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. **Biotropica** 17: 287-301.

Carman, J. G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society** 61: 51-94.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörandl, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Correia, M. C. R., Pinheiro, M. C. & Lima, H. A. 2005. Biologia floral e polinização de *Arrabidaea conjugata* (Vell.) Mart. (Bignoniaceae). **Acta Botânica Brasílica** 19: 501-510.

Costa, M. E., Sampaio, D. S., Paoli, A. A. S. & Leite, S. C. A. L. 2004. Poliembrionia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Cham.) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27:395-406.

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

Dafni, A., Kevan, P. G. & Husband, B. C. 2005. **Practical pollination ecology**. Enviroquest, Cambrige.

Ferreira, D. F. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria**. São Carlos: 255-258.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Forni - Martins, E. & Martins, F. R. 2000. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetic and Molecular Biology** 23: 947-955.

Gentry, A. H. 1974. Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61:728-759.

Gentry, A. H. 1992. Bignoniaceae-Part II (Tribe Tecomeae). **Flora Neotropica**. Monograph 25:1-370.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia*

(Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility. **Botanica Acta** 106: 64-71.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LST: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. **Annals of Botany** 84: 449-457.

Gobatto-Rodrigues, A. A. & Stort, M. N. S. 1992. Biologia floral e reprodução de *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 15: 37-41.

Goldblatt, P. & Gentry, A. H. 1979. Cytology of Bignoniaceae. **Botanical Notiser** 132: 475-482.

Goldenberg, R. & Shepherd, G. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. **Plant Systematics and Evolution** 211:13-29.

Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberger, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american tropical seasonal ecosystem**. Vol. 1: origin, structure, dynamics and plant use. Ulm: Reta Verlag, Germany.

Guimarães, E., Di Stasi, L. C. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2008. Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. **Annals of Botany** 102: 699–711

Husband, B. C., Ozimec, B., Martin, S. L. & Pollock, L. 2008. Mating consequences of polyploid evolution in flowering plants: current trends and insights from syntetic polyploids. **International Journal of Plant Sciences** 169: 195-206.

Kearns, C. A. & Inouye, D. W. 1993. **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado, Niwot.

Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford.

Maloof, J. E. 2001. The effects of a bumble bee robber on plant reproductive success and pollinator behavior. **American Journal of Botany** 88:1960-1965.

Martin, F. W. 1959. Staining and observering pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technology** 34:125-128.

Maués, M. M., Oliveira, P. E. A. M. & Kanashiro, M. 2008. Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the "Floresta Nacional do Tapajós", Central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** 31: 517-527.

McDowell, E. M & Trump, B. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine** 100: 405-414.

Mehra, P. N. & Bawa, K. S. 1969. Chromosomal Evolution in Tropical Hardwoods.

Evolution 23: 466-481.

Milet-Pinheiro, P. & Schlindwein, C. 2009. Pollination in *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae): euglossine pollinators, nectar robbers and low fruit set. **Plant Biology** 11: 131-141.

Miranda, H. S., Bustamante, M. C. & Miranda, A. C. 2002. The fire factor. In: P. S. Oliveira, R. J. Marquis, eds. p. 51-68. **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna.** Columbia University Press, New York.

Morawetz, W. 1986. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution** 152: 49-100.

Oliveira, P. E. & Gibbs, P. E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of central Brazil. **Flora** 195:311-329.

Oliveira, P. E. & Gibbs, P. E. 2002. Pollination and reproductive biology in cerrado plant communities. In: **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna** (P.S. Oliveira, R.J. Marquis, eds.), Columbia University Press, New York. p. 329-347

Olmstead, R. G., Zjhra, M. L., Lohmann, L. G., Grose, S. O. & Eckert, A. J. 2009. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. **American Journal of Botany** 96: 1731–1743.

Pannell, J. R., Obbard, D. J. & Buggs, R. J. A. 2004. Polyploidy and the sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua*? **Biological Journal of the Linnean Society** 82: 547-560.

Piazzano, M. 1998. Números cromosómicos en Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** 26: 179-189.

Polatto, L. P. & Alves Júnior, V. V. 2009. Sistema reprodutivo de *Sparattosperma leucanthum* (Vell.) K. Schum. (Bignoniaceae). **Revista Árvore** 33: 289-296.

Qu, R., Li, X., Luo, Y., Dong, M., Xu, H., Chen, X. & Dafni, A. 2007. Wind-dragged corolla enhances self-pollination: a new mechanism of delayed self-pollination. **Annals of Botany** 100: 1155–1164.

Richards, A. J. 1986. **Plant Breeding Systems**. George Allen & Unwin, London.

Ruiz, T. Z. & Arroyo, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary decidual tropical forest. **Biotropica** 10: 221-230.

Sage, T. L., Bertin, R. I. & Williams, E. G. 1994. Ovarian and other late-acting self-incompatibility systems. In: E. G. Williams et al. (eds.), p. 116-140. **Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Santos, E. M. G. 2008. Biologia reprodutiva de *Jacaranda oxyphylla* Cham. e *Zeyheria montana* Mart. (Bignoniaceae). **Tese de Doutorado**. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu, Botucatu, SP.

Sarmiento, G. & Monasterio, M. 1983. **Ecosystems of the world: tropical savannas**. Elsevier, Amsterdan.

Seavey, S. R. & Bawa, K. S. 1986. Late-acting self-incompatibility in angiosperms. **The Botanical Review** 52: 195-219.

Simmonds, N. W. 1954. Chromosome behavior in some tropical plants. **Heredity** 8: 139-146.

Somanathan, H. & Borges, R. M. 2001. Nocturnal pollination by the carpenter bee *Xylocopa tenuiscapa* (Apidae) and the effect of floral display on fruit set of *Heterophragma quadriloculare* (Bignoniaceae) in India. **Biotropica** 33: 78–89.

Souza, L. A., Iwazaki, M. C. & Moscheta, I. 2005. Morphology of the pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex DC.) Standl. (Bignoniaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 48:407-418.

SPSS. 2000. **Systat version 10**. SPSS Inc., San Francisco, Califórnia.

Stebbins, G. L. 1971. **Chromosomal Evolution in Higher Plants**. J. W. Arrowsmith Ltd., Bristol.

Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. **Annual Review of Ecology Systematics** 12: 253-279.

Sutherland, S. 1987. Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental testes with *Agave mckelveyana*. **Evolution** 4(4): 750-759.

Vieira, M. F., Meira, R. M. S. A., Queiroz, L. P. & Meira Neto, J. A. A. 1992. Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) DC. (Bignoniaceae) em área de cerrado do sudeste brasileiro. **Anais do 8º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo** 13-19.

Vikas, Gautam, M., Tandon R. & Ram, H. Y. M. 2009. Pollination ecology and breeding system of *Oroxylum indicum* (Bignoniaceae) in the foothills of the Western Himalaya. **Journal of Tropical Ecology** 25: 93-96.

Ynagizawa, Y. A. N. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five Melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50: 1043-1050.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Incluindo os dados obtidos no presente trabalho, um total de 60 das 827 espécies de Bignoniaceae já foram estudadas quanto ao sistema reprodutivo. Dessas espécies, 48 (80%) apresentaram sistema de autoincompatibilidade, e 34 (56,7%) apresentaram um sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI), que possivelmente está presente nas demais espécies autoincompatíveis (Bittencourt Júnior 2003, Capítulo Introdutório, Capítulos 1, 2, 3 e 4). Cinco espécies com LSI também apresentam populações autoférteis e onze espécies são exclusivamente autoférteis de acordo com os dados disponíveis até o momento (Capítulo Introdutório, Capítulos 1). Entre as espécies exclusivamente autoférteis ou com sistema reprodutivo misto constam lianas, árvores, subarbustos e ervas, de forma que o hábito não parece ser um fator determinante para a expressão de autofertilidade nas espécies de Bignoniaceae.

Das onze espécies estritamente autoférteis de Bignoniaceae, sete são poliplóides e pertencem a três gêneros de árvores, lianas e subarbustos, respectivamente (Capítulo Introdutório, Capítulos 1 e 2). Esse cenário mostra que, embora a poliploidia possa ser importante para a expressão da autofertilidade, ela não é a única responsável pela quebra do sistema de autoincompatibilidade em Bignoniaceae. Já as espécies que apresentam sistema misto, com plantas ou populações autoférteis e autoestéreis, são predominantemente diplóides, com 2n=40, à exceção de *Handroanthus ochraceus*, que apresenta populações autoestéreis diplóides (Gibbs & Bianchi 1993, Barros 2001, Guerra & Natera 2007, Capítulos 1 e 2) e autoférteis tetraplóides (Capítulo 1, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados).

Como as espécies subarbustivas de Bignoniaceae, que têm origem em grupos de árvores ou lianas, apresentam um sistema de autoincompatibilidade que predomina nas demais espécies da família (Gibbs 1990, Amaral 1992, Gibbs & Bianchi 1993, 1999, Bittencourt Júnior 2003, Capítulo Introdutório), a adaptação destas espécies ao estrato vegetacional herbáceo-arbustivo não parece ter envolvido modificações em seu sistema reprodutivo. O aspecto filogenético parece ser mais importante que a mudança de hábito na determinação do sistema reprodutivo das espécies de Bignoniaceae (Capítulo 1). Dessa forma, a maneira como as espécies do estrato herbáceo-arbustivo de Bignoniaceae se adaptaram às características do Cerrado e garantiram a manutenção do processo reprodutivo não envolveu a autofertilidade, como é comum para outras espécies deste estrato vegetacional (Barringer 2007, Barbosa & Sazima 2008). Por outro lado, os únicos gêneros herbáceos da família, *Argylia* e *Incarvillea*, apresentam número cromossômico reduzido, 2n=30 e 2n=22,

respectivamente (Goldblatt & Gentry 1979, Gentry 1980), e a única espécie avaliada quanto ao sistema reprodutivo se mostrou autofértil (Qu *et al.* 2007), de forma que o hábito herbáceo pode estar relacionado ao estabelecimento da autofertilidade.

A reprodução vegetativa através de um sistema subterrâneo desenvolvido possibilita a persistência de subarbustos no ambiente mesmo quando toda a sua parte aérea tiver sido devastada, seja por seca, fogo ou herbivoria, possibilitando o rebrotamento e a produção e dispersão de sementes numa nova estação reprodutiva (Miranda *et al.* 2002, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006). A atratividade da planta, por sua vez, não parece ser prejudicada devido à natureza do habitat em que ocorrem, fitofisionomias abertas de Cerrado como campos rupestres e campos-sujos. O rebrotamento vigoroso a partir de órgãos subterrâneos acarreta florações maciças nas populações após queimadas ou podas artificiais (Soares *et al.* 2006, observação pessoal). A manutenção da polinização por insetos é fundamental para a realização de polinizações cruzadas na família, e os resultados aqui apresentados indicam que as espécies subarbustivas de Bignoniaceae possuem uma grande diversidade de visitantes florais, principalmente abelhas de médio e grande porte, os quais são seus principais polinizadores (Gentry 1974, Gentry 1980, Capítulo Introdutório).

Como a poliploidia ocorre eventualmente em qualquer tipo de forma de vida perene encontrada nas Bignoniaceae, sejam árvores, subarbustos ou lianas (Capítulo 1), nossos dados evidenciam que qualquer hábito perene possibilita a estabilização de poliplóides, os quais tendem a ser autoférteis (Barringer 2007). A maioria das espécies poliplóides de Bignoniaceae, também é apomítica (Capítulo 1). A apomixia é geralmente relacionada à alopoliploidia, que envolve uma origem híbrida dos poliplóides (Asker & Jerling 1992, Carman 2007). Nosso trabalho evidenciou que as espécies autoférteis, apomíticas e poliplóides de Bignoniaceae se concentram em grupos que apresentam problemas para o tratamento taxonômico devido a presença de indivíduos de morfologia intermediária, indicando a ocorrência de hibridações (Capítulos 1, 2 e 3). A ocorrência preferencial de espécies apomíticas e poliplóides no Cerrado e em ambientes instáveis (Morawetz 1986) pode refletir a capacidade dessas plantas de se adaptarem a condições extremas (Stebbins 1971, Richards 1986, Asker & Jerling 1992, Levin 2002, Carman 2007, Ellstrand & Schierenbeck 2000, Abbot *et al.* 2003), embora estudos mais abrangentes nas florestas devam ser feitos para reforçar esta hipótese (Forni - Martins & Martins 2000).

Desta forma, as espécies poliplóides e apomíticas tenderiam a se concentrar em grupos que podem realizar fluxo gênico interespecífico e gerar híbridos viáveis (Ellstrand *et al.* 1996), que teriam a possibilidade de se poliploidizar e de expressar a apomixia esporofítica

(Carman 2007). Esse parece ser o caso encontrado em espécies dos gêneros *Handroanthus* e *Anemopaegma* que compõe verdadeiros complexos agâmicos poliplóides (Firetti 2009, Capítulos 1, 2 e 3). Entretanto, a hibridação não necessariamente dá origem a grupos poliplóides e apomíticos (Carman 2007). Em *Adenocalymma* foi possível observar evidências de hibridação em populações *in situ* e mostrar experimentalmente que tais processos dão origem a sementes viáveis, embora as populações das espécies estudadas sejam estritamente diplóides e autoestéreis (Capítulo 4). Como a apomixia parece depender da expressão assincrônica de genes duplicados (Carman 2007), é possível que alguns híbridos não passem por poliploidizações e não expressem os genes relacionados à apomixia de maneira assincrônica, de modo que a ocorrência de híbridos não necessariamente implica na expressão da apomixia (Capítulo 4).

As variações no sistema reprodutivo de autoincompatibilidade de ação tardia observadas em algumas espécies de Bignoniaceae consistem em autofertilidade e apomixia (Capítulo Introdutório, Capítulo 1). A autofertilidade pode ou não estar relacionada à poliploidia e as espécies poliplóides podem ou não ser apomíticas (Capítulo Introdutório, Capítulo 1). Diversos fatores podem desencadear modificações no LSI das Bignoniaceae, desde mutações gênicas fixadas em plantas cultivadas ou isoladas geograficamente, até poliploidizações que podem ou não ser decorrentes de hibridações. Embora o primeiro caso pareça ocorrer eventualmente em populações e espécies de Bignoniaceae, a ocorrência de poliploidizações encontra-se concentrada em determinados gêneros.

Embora pouco frequentes em Bignoniaceae, tais modificações no LSI são extremamente importantes para as relações ecológicas e para a evolução das linhagens em que ocorrem. Uma prova da importância de tais grupos é o fato das espécies que apresentam quebra no sistema de autoincompatibilidade possuírem uma distribuição muito mais ampla que a de seus parentais diplóides (Gentry 1992, Capítulos 1 e 2). Estas espécies possuem ainda uma taxa de produção de frutos geralmente superior à das espécies diplóides (Dutra & Machado 2001, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Capítulo 3, N. S. Bittencourt Júnior, dados não publicados). As vantagens adaptativas parecem ser ainda maiores no caso das espécies que são poliplóides e apomíticas, visto que elas podem realizar autofecundações sem que ocorra depressão endogâmica devido à elevada heterozigozidade de seus ancestrais, que é mantida através da produção de plântulas clonais via apomixia (Allem 2004). Estas linhagens ainda poderiam aumentar a variabilidade genética de suas populações através da reprodução sexuada concomitante a produção de embriões clonais em uma mesma semente ou planta (Batygina 1999a e b, Allem 2004, Allen & Hiscock 2008, Capítulos 2, 3). A manutenção da

reprodução sexuada nessas espécies e a possibilidade de fluxo gênico intercitótipos pode, ainda, ser responsável por novos processos de especiação (Allem 2004, Allen & Hiscock 2008, Capítulo 2). Aparentemente, a ocorrência de sistemas de reprodução mistos, que possam envolver fecundações cruzadas, autofecundações e apomixia, pode ser uma das alternativas mais vantajosas para as angiospermas (Allem 2004, Bayer & Chandler 2007), podendo funcionar como um importante mecanismo de manutenção e promoção da biodiversidade (Allem 2004, Allen & Hiscock 2008) nos trópicos.

Referências Bibliográficas

Abbot, R. J., James, J. K., Milne, R. I. & Gillies, A. C. M. 2003. Plant introductions, hybridization and gene flow. **Phil. Trans, R. Soc. London** B 338: 1123-1132.

Allem, A. C. 2004. Optimization theory in plant evolution: an overview of long term evolutionary prospects in the angiosperms. **The Botanical Review** 69: 225-251.

Allen, A. M. & Hiscock, S. J. 2008. Evolution and phylogeny of self-incompatibility systems in angiosperms. In: Franklin-Tong, V. (ed.). p. 73-102. **Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms.** Springer-Verlag, Berlin.

Amaral, M. E. C. 1992. Ecologia floral de dez espécies da Tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semidecídua no município de Campinas, SP. **Tese de Doutorado**, Departamento de Ecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Asker, S. E. & Jerling, L. 1992. **Apomixis in plants**. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Barbosa, A. A. A. & Sazima, M. 2008. Biologia reprodutiva de plantas herbáceo-arbustivas de uma área de campo-sujo de Cerrado. In: Sano, S. M., Almeida, S. P. & Ribeiro, J. F. (eds.). p. 291-318. **Cerrado: Ecologia e Flora,** vol. 1. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, e Embrapa Cerrados, Planaltina.

Barringer, B. C. 2007. Polyploidy and self-fertilization in flowering plants. **American Journal of Botany** 94: 1527-1533.

Barros, M. G. 2001. Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth & Hook and *T. ochracea* (Cham). Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 255-261.

Batygina, T. B. 1999a. Genetic heterogeneity of seeds in terms of embryology. **Russian Journal of Plant Physiology** 46: 374-388.

Batygina, T. B. 1999b. Genetic heterogeneity of seeds. **Acta Biologica Cracoviensia** 41: 39-50.

Bayer, R. J. & Chandler, G. T. 2007. Evolution of polyploid agamic complexes: a case study using the *Catipes* group of *Antennaria*, including the *A. rosea* complex (Asteraceae: Gnaphalieae). In: Hörandl, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 317-336. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörandl, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Dutra, J. C. S. & Machado, V. L. L. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante seu período de floração. **Neotropical Entomology** 30: 43-53.

Ellstrand, N. C. & Schierenbeck, K. A. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? **PNAS** 97:7043-7050.

Ellstrand, N. C., Whitkus, R. & Riseberg, L. H. 1996. Distribution of spontaneous plant hybrids. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 93: 5090-5093.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese de Doutorado**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Forni - Martins, E. & Martins, F. R. 2000. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetic and Molecular Biology** 23: 947-955.

Gentry, A. H. 1974. Coevolutionary patterns in central american Bignoniaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61: 728-759.

Gentry, A. H. 1980. Bignoniaceae - Part. I. (Crescentieae and Tourrettieae). **Flora Neotropica** Monog. 25: 1-130.

Gentry, A. H. 1992. Bignoniaceae - Part. II. (Tribe Tecomae). **Flora Neotropica** Monog. 25(II): 1-370.

Gibbs, P. E. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. **Revista Brasileira de Botânica** 13: 125-136.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility.

Botanica Acta 106: 64-71.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LST: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. **Annals of Botany** 84: 449-457.

Goldblatt, P. & Gentry, A. H. 1979. Cytology of Bignoniaceae. **Botanical Notiser** 132: 475-482.

Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberger, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american tropical seasonal ecosystem**. Vol. 1: origin, structure, dynamics and plant use. Ulm: Reta Verlag, Germany.

Guerra, N. A. & Natera, R. M. 2007. Chromosome numbers tree *Tabebuia* species (Bignoniaceae). **Nordic Journal of Botany** 25: 359-360.

Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford.

Miranda, H. S., Bustamante, M. C. & Miranda, A. C. 2002. The fire factor. In: P. S. Oliveira, R. J. Marquis, eds. p. 51-68. **The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna.** Columbia University Press, New York.

Morawetz, W. 1986. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution** 152: 49-100.

Qu, R., Li, X., Luo, Y., Dong, M., Xu, H., Chen, X. & Dafni, A. 2007. Wind-dragged corolla enhances self-pollination: a new mechanism of delayed self-pollination. **Annals of Botany** 100: 1155–1164.

Richards, A. J. 1986. **Plant Breeding Systems**. George Allen & Unwin, London.

Soares, J. J., Souza, M. H. A. O. & Lima, M. I. S. 2006. Twenty years of post-fire plant succession in a “Cerrado”, São Carlos, SP. **Brazilian Journal of Biology** 66(2B): 587-602.

Stebbins, G. L. 1971. **Chromosomal Evolution in Higher Plants**. J. W. Arrowsmith Ltd., Bristol.

Ynagizawa, Y. A. N. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five Melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50: 1043-1050.