

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *ERIOTHECA*  
(BOMBACACEAE) EM CERRADOS E MATAS DO  
BRASIL CENTRAL.**

**Clesnan Mendes Rodrigues**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção de grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG  
Junho - 2001

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *ERIOTHECA*  
(BOMBACACEAE) EM CERRADOS E MATAS DO  
BRASIL CENTRAL.**

**Clesnan Mendes Rodrigues**

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção de grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG  
Junho - 2001




UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *ERIOTHECA*  
(BOMBACACEAE) EM CERRADOS E MATAS DO  
BRASIL CENTRAL.

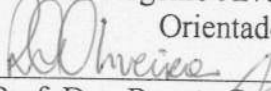
Clesnan Mendes Rodrigues

APROVADA PELA BANCA EXAMINADORA EM 13/06/2001

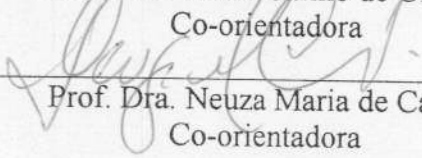
NOTA 95

  
Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

Orientador

  
Prof. Dra. Renata Carmo de Oliveira

Co-orientadora

  
Prof. Dra. Neuza Maria de Castro

Co-orientadora

  
Universidade Federal de Uberlândia  
Prof.ª Dra. Ana Angélica Almeida Barbosa  
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Uberlândia, 13 de junho de 2001.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado perseverança, força e conforto em todos os momentos que por algum motivo estive alegre, reflexivo e triste.

Agradeço a minha mãe, Juliana, por ter sido a pessoa mais importante na minha vida, por ter me dado amor, conforto, carinho, amizade e compreensão; sem a qual eu não teria chegado até aqui. Eu te amo muito.

Agradeço a minha irmã, Clélia, que como minha mãe foi essencial nas minhas conquistas.

Agradeço ao meu pai, Iraci; aos meus irmãos, Clêdines e Clesmark; aos meus sobrinhos, Fábio, Juliana, Windsor e Jeferson; aos meus cunhados Lúcia, Gisléia e Osvaldo; e a todos os meus familiares pelos momentos de prazer em família, pelos conselhos e pelo apoio incondicional.

Agradeço aos meus colegas de república, Eduardo e Fabrício, por terem me agüentado todos esses anos e por terem me dado excelentes momentos. Aos meus vizinhos; Juliano, André e Cassimar; pelos momentos em comum.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Paulo Eugênio, por ter me compreendido nas minhas decisões e por ter tido paciência comigo, por ter sido meu espelho e por todos os conselhos.

Agradeço a minha co-orientadora, Prof.a. Renata, por ter sido tão prestativa comigo nesses meses de laboratório, e por todos os conselhos. Agradeço também a co-orientação da Prof.a. Neuza.

Agradeço a Alice, pelos momentos tão agradáveis dentro e fora do laboratório, a quem considero uma grande amiga.



Aos grandes amigos que fiz nestes anos: aos colegas de sala, aos colegas do curso de Ciências Biológicas, aos colegas do curso de Enfermagem e a todos aqueles que de certo modo passaram pela minha vida durante esses anos. Todos vocês foram essenciais na minha formação.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha formação sem os quais não teria embasamento para este trabalho. Meu muito obrigado.

Agradeço a FAPEMIG, pelo suporte financeiro.

" ... todos os homens aspiram ao saber. "

(Aristóteles)

## SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1 . INTRODUÇÃO.....	01
2 . MATERIAL E MÉTODOS.....	06
3 . RESULTADOS.....	11
3.1 . Polinizações e formação de frutos .....	11
3.2 . Padrões de crescimento de botões florais e dos frutos .....	13
3.3 . Embriologia .....	17
3.4 . Distribuição dos embriões em <i>Eriotheca pubescens</i> .....	22
3.5 . Crescimento dos óvulos e/ou sementes em <i>Eriotheca gracilipes</i> .....	24
4 . DISCUSSÃO.....	25
4.1 . Polinizações e formação de frutos .....	25
4.2 . Padrões de crescimento de botões florais e dos frutos .....	27
4.3 . Embriologia .....	28
4.4 . Distribuição dos embriões em <i>Eriotheca pubescens</i> .....	30
4.5 . Crescimento dos óvulos e/ou sementes em <i>Eriotheca gracilipes</i> .....	31
5 . CONCLUSÕES .....	33
6 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34



## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Medidas do tamanho de botões de *Eriotheca pubescens*, com respectivas curva de regressão e equação. Obtido na Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000. .... 14
- Figura 2.** Medidas do tamanho de botões de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir dos indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000..... 14
- Figura 3.** Medidas do tamanho de frutos resultantes de autopolinização de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir de indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000. .... 15
- Figura 4.** Medidas de tamanho de frutos resultantes de polinização cruzada de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir de indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000. .... 15
- Figura 5.** Medidas de tamanho de frutos resultantes de polinização natural de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir de indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000. .... 16

**Figura 6.** Medidas do tamanho de frutos resultantes de todos os tratamentos de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir de indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a 2000..... 16

**Figura 7.** Medidas de tamanho de frutos de *Eriotheca gracilipes*, com as respectivas curvas de regressão e equações. Dados obtidos a partir de indivíduos do campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia e da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000..... 17

**Figura 8.** Óvulos e sementes de *Eriotheca pubescens* (a,b,c,d,e,f,g,h): a) Porção micropilar de óvulo em pré-antese mostrando o saco embrionário (SE) e o aparato oosférico (AO). Esc.= 50  $\mu$ m; b) Detalhe do aparato oosférico durante a antese, mostrando a oosfera (O) e as duas sinérgidas (S). Esc.= 15  $\mu$ m; c) Secção de fruto, com 2 cm (cerca de 26 dias) de comprimento, mostrando um embrião sexuado (Emb) e núcleos do endosperma (setas). Esc.= 40  $\mu$ m; d) Secção de um fruto com 3 cm (cerca de 32 dias) de comprimento mostrando uma célula do nucelo em divisão mitótica (seta). Esc.= 15  $\mu$ m; e) Outra região da mesma secção mostrando um grupo de células do nucelo, semelhante aos tecidos dos embriões adventícios (setas) Esc.= 40  $\mu$ m; f) Secção de um fruto com 5,5 cm de comprimento (cerca de 40 dias) mostrando dois embriões adventícios, em estágio globular (setas), próximos ao bico nucelar. Esc.= 80  $\mu$ m; g) Secção de um fruto com 7 cm (cerca de 40 dias) de comprimento mostrando um embrião adventício (EA) e um outro embrião com sinais de degeneração (ED), que pode representar o embrião sexuado ou o adventício, com



desenvolvimento anormal. Esc.= 170  $\mu\text{m}$ ; h) Secção de fruto com 10 cm (cerca de 52 dias) de comprimento mostrando dois embriões adventícios (EA), com os cotilédones polarizados e um embrião menor e mais central, que poderia ser um embrião sexuado (ES?). Esc.= 270  $\mu\text{m}$ ; i) *Eriotheca candolleana* - secção de uma semente, de um fruto com ca. de 4 cm de comprimento, localizada na região micropilar do óvulo, mostrando o embrião sexuado (Emb) com os cotilédones polarizados. Esc.= 500  $\mu\text{m}$ ; j) *Eriotheca gracilipes* - secção de uma semente, de um fruto com 7,5 cm (cerca de 42 dias) de comprimento, mostrando um embrião sexuado (Emb) com os cotilédones polarizados. Esc.= 150  $\mu\text{m}$ . ..... 20-21

**Figura 9.** Número médio de embriões em árvores isoladas (1, 2, 3 e 6) e árvores agrupadas (4 e 5) de *Eriotheca pubescens* no município de Uberlândia - MG no ano de 2000. .... 23

**Figura 10.** Número médio de embriões para os diferentes tratamentos: autopolinização, polinização cruzada e polinização natural em *Eriotheca pubescens*. Dados obtidos a partir dos indivíduos do Clube Caça e Pesca Itororó em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000. .... 23

**Figura 11.** Medidas da área retangular (comprimento maior x comprimento menor) de óvulos e/ou sementes de *Eriotheca gracilipes* depois de autopolinização, polinização cruzada e apomixia. Resultados de diferentes pistilos (n=2) e óvulos (n=40) medidos 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas após polinização. Dados obtidos a partir de indivíduos do campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, no período de Junho a Junho de 2000. .... 24

## ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.** Percentagem de frutos maduros em diferentes tipos de cruzamentos realizados em indivíduos de *Eriotheca pubescens* da Reserva do Clube e Caça e Pesca Itororó e *Eriotheca gracilipes* no campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG no período de 07/06/2000 a 15/07/2000 (n= 3 árvores) ..... 12
- Tabela 2.** Número de sementes por fruto em *Eriotheca pubescens* na Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó e *Eriotheca gracilipes* do campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000 (n= 3 árvores) ..... 13



## RESUMO

O gênero *Eriotheca* (Bombacaceae) inclui 20 espécies sendo 3 delas presentes no bioma cerrado: *Eriotheca pubescens* Schott & Endl., uma espécie poliembrionica e provavelmente apomítica; *Eriotheca gracilipes* (K.Sch.) Robyns., sexuada e auto-incompatível e *Eriotheca candolleana* (K.Sch.) Robyns, espécie vicariante, em matas de galeria e ainda pouco estudada. O presente trabalho visou confirmar a apomixia em *E. pubescens* e realizar um estudo comparativo da biologia reprodutiva destas espécies. Flores e frutos foram coletados de plantas em Uberlândia - MG e, em seguida, fixados em FAA 50, FAA MOD ou FPA, desidratados e incluídos em Paraplast. Os cortes obtidos foram corados em azul de astra e fuccina básica. *Eriotheca pubescens* apresenta embriologia, aparentemente, normal com a presença de um único saco embrionário e aparato oosférico. Nesta espécie a poliembrionia é resultante da presença de embriões adventícios originados a partir do nucelo. Ocorre ainda a formação de um zigoto, que fica dormente até os 28 dias e depois origina um embrião sexuada. Os embriões adventícios surgem entre 32 e 40 dias após a polinização e se desenvolve mais rapidamente que os embriões sexuados. O número de embriões por semente varia significativamente, sendo maior, em frutos de árvores isoladas no campo, sem outro indivíduo da mesma espécie, e naqueles resultantes de polinização cruzada. *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca candolleana* formaram um único saco embrionário e um único embrião sexuada, sem evidências de poliembrionia. Em *Eriotheca gracilipes* não se evidenciou nenhum padrão diferencial de crescimento entre os óvulos após os diversos tratamentos de polinização controlada, que pudesse explicar a auto-esterilidade apresentada pela espécie.

Palavras-chaves: *Eriotheca*, Bombacaceae, poliembrionia, embriões adventícios e sistema reprodutivo.

## ABSTRACT

The genus *Eriotheca* (Bombacaceae) includes 20 species with three of them present in the cerrado biome *Eriotheca pubescens* Schott & Endl. a polyembryonic and probably apomictic species; *Eriotheca gracilipes* (K.Sch.) Robyns., a sexual and self-incompatible one and *Eriotheca candolleana* (K.Sch.) Robyns, a vicariant species in gallery forests yet little studied. The present work aim to confirm the apomixis in *E. pubescens* and carry out a comparative study of reproductive biology these species. Flowers and fruits were collected from trees in the Uberlândia - MG, fixed in FAA 50, FAA MOD ou FPA, dehydrated and include in Paraplast. The sections were stained with astra blue and basic fuccine. *Eriotheca pubescens* showed apparently normal embriology with one single embryo-sac and egg apparatus, and the polyembryony a result of adventitious embryo originated from nucellus. A dormant zygote was observed until 28 days which originated a sexual embryo. Adventitious embryos arise between 32 and 40 days after the pollination and develop more quickly that the sexual embryo. The numbers of embryos for seed varied significantly, being larger in fruits of isolated trees in the field and in those fruits which resulted from cross-pollination. *Eriotheca gracilipes* and *Eriotheca candolleana* showed one single embryo-sac and sexual embryo, without any evidence of polyembryony. For *Eriotheca gracilipes* there was no pattern of differential growth among ovules from different hand-pollination treatment which could explain the self-sterility present in this species.

Key words: *Eriotheca*, Bombacaceae, polyembryony, adventitious embryos and breeding systems.



## 1. INTRODUÇÃO:

A família Bombacaceae compreende 30 gêneros e 250 espécies de distribuição pantropical (Baum & Oginuma, 1994), com o maior centro de dispersão localizado na América (Joly, 1979). São plantas arbóreas freqüentemente com tronco exageradamente engrossado pelas reservas de água, com folhas grandes, em geral digitadas ou inteiras, alternas, com estípulas caducas. Os espinhos são freqüentes no caule grosso. As flores são grandes, hermafroditas e de simetria radial. O androceu é formado por 5 a muitos estames, com filetes soldados na base em uma coluna, usualmente, curta. O ovário é súpero, pentacarpelar, pentalocular, com muitos óvulos. O fruto é seco, capsular loculicida. As sementes em geral são oleaginosas, envoltas com pêlos originados da parede interna do endocarpo e que auxiliam na dispersão pelo vento (Joly, 1979).

*Eriotheca* é um gênero tropical com 20 espécies sendo que somente duas destas ocorrem na vegetação do cerrado (Robyns, 1963): *Eriotheca gracilipes* (K. Schum.) A. Rob. que ocorre no centro-oeste, em áreas de cerrado e na sua transição para a floresta latifoliada

semidecídua e *Eriotheca pubescens* (Mart & Zucc) Schott et Endl que ocorre em São Paulo, Minas Gerais e Bahia, no cerrado e em cerradões. Uma terceira espécie, *Eriotheca candolleana* (K. Schum) A. Rob. ocorre do sul da Bahia até São Paulo, na floresta pluvial Atlântica e na mata semidecídua de altitude, sendo elemento comum nas matas de galeria do Brasil Central (Oliveira-Filho & Ratter, 1995). As espécies estudadas têm importância ornamental além da madeira, que pode ser usada na confecção de miolo de portas, painéis, forros, brinquedos, caixotaria e pasta celulósica (Lorenzi, 1992).

As espécies do cerrado já foram estudadas por Oliveira *et al.* (1992). Eles encontraram que *Eriotheca gracilipes* é polinizada por abelhas grandes, especialmente do gênero *Centris*, sendo uma espécie sexuada e auto-incompatível. Por outro lado, *Eriotheca pubescens* aparentou ser autocompatível, nos experimentos de polinizações controladas realizadas por estes autores, mas a presença de 75% das sementes com mais de um embrião, indicou a ocorrência de apomixia. A apomixia adventícia já havia sido observada para outras espécies de Bombacaceae (Baker 1960, Duncan 1970). Em *Eriotheca pubescens*, entretanto, esta poliembrião e possível apomixia dependem da polinização, pois as flores emasculadas para testes de apomixia não apresentam formação de frutos (Oliveira *et al.* 1992).

Estudos histológicos, de pistilos coletados até 14 dias após a polinização, não conseguiram demonstrar a natureza adventícia e assexuada dos embriões nessa espécie, exigindo estudos mais detalhados que permitissem acompanhar a ontogenia dos embriões (Oliveira *et al.* 1992). Além disso, não foi possível definir se a poliembrião ocorre independente do tipo de polinização ou se ela pode ser consequência de autopolinização.

Em contraste com as espécies de cerrado, *Eriotheca condolleana* ainda não foi estudada em relação a sua embriologia, o que permitiria um estudo comparativo entre as espécies. Dados obtidos para plantas cultivadas, em Campinas, indicam que *Eriotheca*



*candolleana* é uma espécie sexuada e auto-incompatível, apresentando sistema de auto-incompatibilidade de ação tardia (Gomes da Silva, 1997 *apud* Gibbs & Bianchi, 1999).

Estas espécies de *Eriotheca* constituem espécies vicariantes, dentro das formações de cerrados e matas do Brasil Central. Vicariância é o fenômeno no qual, no curso de sua diferenciação ou especiação, certas espécies ou variedades, morfologicamente muito afins, ocupam áreas que se excluem mutuamente. Sendo estreitamente aparentadas, parecem derivar de um ancestral em comum, isto é, têm a mesma origem. A frequência de pares de espécies vicariantes em cerrado e matas da região é alta, sendo que vários exemplos podem ser vistos em Rizzini (1979). Esta ocorrência pode ter sido consequência de mudanças paleoclimáticas em um passado recente (Prance, 1992). É possível imaginar que uma espécie ancestral pode ter vindo a ocupar habitats diferentes, acumulando diferenças que culminaram na formação de raças e depois espécies distintas, mas que mantiveram características em comum. Estas espécies aparentadas, que ocorrem em formações diferentes no Brasil Central, podem ser a chave para entender o processo de especiação e de adaptação de grupos florestais ao ambiente de cerrado (Heringer *et al.* 1977, Arista *et al.* 1997).

Tanto as áreas de cerrado e como as matas do Brasil Central apresentam plantas lenhosas com sistemas de reprodução predominantemente xenogâmicos e dependem da polinização cruzada por vetores bióticos (Oliveira & Gibbs, 2000). Apesar disto, encontramos exemplos onde o principal meio de reprodução, é a apomixia. (Baumgratz & Silva 1988, Goldenberg & Shepherd 1998)

Na reprodução sexual, o óvulo tem um papel multifuncional porque ele aloja os processos seqüenciais da gametogênese feminina, fertilização e do desenvolvimento do embrião. Uma seqüência definida de eventos deve ser completada, para resultar na geração de uma semente fértil e geneticamente única, que é o produto final da reprodução das angiospermas. Processos apomíticos sobrepõem-se à todos estes eventos reprodutivos sexuais



que ocorrem no óvulo e que constituem pré-requisitos para o entendimento da apomixia. Diferenças no desenvolvimento que originam apomixia são comumente identificáveis. Estas são divididas em três mecanismos denominados diplosporia, aposporia e apomixia adventícia. Diplosporia e aposporia ocorrem no tempo da célula mãe de megásporo, resultando na formação da estrutura megagametofítica sem redução meiotica, e o embrião desenvolve-se a partir deste megagametófito não reduzido. Embriões adventícios ocorrem no óvulo maduro e são iniciados a partir de células somáticas dos tecidos do óvulo, externas ao megagametófito, sexualmente derivado. (Koltunow, 1993)

A ocorrência de apomixia está relacionada com diferentes fatores, tais como poliploidia (Savidan, 1985) e eventos de hibridação (Goldenberg & Shepherd, 1998).

Savidan (1985), trabalhando com gramíneas tropicais encontrou a ausência de apomixia em diplóides e apomixia freqüente em poliplóides, sendo que as espécies apomíticas apresentam uma distribuição muito ampla.

Oliveira *et al.* (1992), encontrou que em *Eriotheca pubescens* o número de cromossomos é  $2n = 276$  e em *Eriotheca gracilipes*  $2n = 92$ , sugerindo ser a primeira espécie uma hexaplóide (poliplóide) da segunda, o que foi admitido também por outros autores (Baum & Oginuma, 1994).

Goldenberg & Shepherd (1998), trabalhando com Melastomatáceas sugerem que a apomixia entre as espécies do grupo pode resultar de eventos de hibridação, mas adiantam que um dos fatores mais determinantes para a presença de apomixia é a filogenia. Também afirmam que as espécies apomíticas têm um maior poder de dispersão que espécies congênicas sexuadas. O que é condizente com o maior poder de dispersão de *Eriotheca pubescens* frente a *Eriotheca gracilipes* (Lorenzi, 1992).

O objetivo do trabalho foi completar os dados sobre o desenvolvimento embrionário de *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens*, definindo a natureza e a ontogenia dos



embriões adventícios formados pela última espécie. Além disto, estudar comparativamente a embriologia de *Eriotheca candolleana*, uma espécie vicariante ocorrente em matas da região, de Uberlândia - MG.

## 2 . MATERIAL E MÉTODOS:

O trabalho de campo foi realizado em áreas de cerrados, especialmente na Reserva Particular do Patrimônio Natural do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), no campus da Universidade Federal de Uberlândia e em matas da região próximas da Cachoeira da Sucupira. Todas as localidades pertencentes ao município de Uberlândia (18°30' - 19°30' S; 47°50' W), no estado de Minas Gerais. O clima na região é tropical chuvoso com inverno frio e seco e verão quente e chuvoso, caracterizando o tipo de clima Aw, segundo a classificação de Köppen (Rosa *et. al.* 1991, Borali 1996). O inverno (Junho a Agosto) apresenta uma temperatura média mensal de 18,8° C e pluviosidade variando de 20 a 50 mm, enquanto o verão (Dezembro a Fevereiro) apresenta temperaturas médias mensais de 23,5° C com índice pluviométrico em torno de 812,5 mm (Rosa *et. al.* 1991).

As espécies estudadas foram: *Eriotheca pubescens*, *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca candolleana*.



O estudo embriológico envolveu a realização de polinizações manuais: autopolinização e polinizações cruzadas, feitas em flores previamente emasculadas e isoladas em sacos de organza de nylon. Foram ainda marcadas algumas flores, para avaliar o sucesso da polinização natural. As fases dos embriões foram analisadas conforme proposto por West & Harada (1993), para todas as espécies.

Para a preparação de um calendário reprodutivo foi acompanhado o desenvolvimento de botões, flores e frutos de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes*, diretamente no campo. Este acompanhamento envolveu medidas diretas dos tamanhos, desde botões florais mais jovens até frutos maduros, conforme metodologia adaptada de Carmo-Oliveira (1998). Estes dados foram relacionados com eventos embriológicos observados nos estudos histológicos (ver abaixo).

Em *Eriotheca pubescens* o acompanhamento do crescimento dos botões florais foi feito no período de 21/06/2000 à 31/07/2000 em 02 árvores da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó. Foram acompanhados 40 botões florais, dos quais apenas 11 botões chegaram à antese e foram incluídos na análise. As medidas foram feitas a partir da bráctea superior do cálice até o ápice do botão.

Em *Eriotheca gracilipes* as observações foram feitas no período de 06/06/2000 à 10/07/2000 em 03 árvores do campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia. Foram acompanhados 69 botões florais, dos quais apenas 50 deles chegaram à antese e foram incluídos na análise. As medidas nesta espécie foram feitas a partir do nectário floral do cálice até o ápice do botão.

Para o acompanhamento do desenvolvimento dos frutos e embriões foram feitas marcações, com etiquetas ou cola colorida de PVA, em flores recém-abertas de *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca pubescens*. Frutos em desenvolvimento foram medidos em diferentes datas após a polinização e também no momento da coleta dos mesmos para a fixação. Em



*Eriotheca gracilipes* as medidas foram tomadas do nectário até o ápice do fruto (n=35 frutos), em plantas na Reserva do Clube e Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU) (n=4 árvores) e no campus da Universidade Federal de Uberlândia (n=1 árvore) e foram coletados frutos entre 7 e 70 dias após a polinização.

Em *Eriotheca pubescens* as medidas foram feitas da bráctea superior do cálice até o ápice do fruto (n total=57 frutos, onde n=37 para autopolinização, n=8 para polinização cruzada e n=22 para polinização natural). As medidas e os tratamentos foram realizados em 3 árvores na Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó durante o período de 20/06/2000 e 15/07/2000. Foram feitos tratamentos de autopolinização, polinização cruzada e polinização natural para o acompanhamento do crescimento dos frutos e para a caracterização de diferenças no desenvolvimento embrionário. Os frutos resultantes dos tratamentos foram fixados em diferentes períodos após a polinização. Foram coletados e fixados frutos de autopolinização entre 19 e 50 dias, de polinização cruzada entre 26 e 40 dias e de polinização natural entre 21 e 70 dias. As sementes de frutos fixados foram cortadas e comparadas posteriormente para observar o desenvolvimento dos embriões. As sementes dos frutos originados de autopolinização, polinização cruzada e polinização natural, acompanhados até a maturação foram analisadas para contagem do número de embriões formados. A análise de variância foi utilizada para testar a influência do tratamento de polinização sobre o número de embriões por semente (Sokal & Rohlf, 1981).

O estudo de *Eriotheca candolleana* foi feito de maneira simplificada, dada a dificuldade de acesso às árvores. Flores em antese e frutos em diferentes fases e tamanhos foram coletados de 2 árvores próximas a Cachoeira do Sucupira em Uberlândia - MG, medidos e fixados para as análises. A análise do desenvolvimento dos embriões foi feita a partir do tamanho do fruto medido, desde o nectário floral até o ápice do fruto, uma vez que não foi possível acompanhar em detalhe a floração desta espécie.



As medidas dos botões florais de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* foram lançadas em um gráfico em função do dia da antese de cada botão, e a medidas dos frutos, a partir do dia da antese da flor e ou data da polinização. Foi calculado o coeficiente ( $R^2$ ) e a equação da reta ou da curva de regressão da distribuição das medidas de cada espécie, sendo escolhida aquela que melhor se ajustou ao padrão de crescimento do referido material.

Flores em antese, flores abertas e frutos em diversas etapas do desenvolvimento foram fixados em FAA (1 formalina: 1 ácido acético: 18 álcool 70%); FAA modificado (Lersten & Curtis, 1988) ou FPA (Johansen, 1940) e estocados em álcool 70%.

Os materiais fixados foram desidratados em série butílica e incluídos em "Paraplast" (Sass 1951, Kraus & Arduin 1997). As amostras foram seccionadas em micrótomo rotatório em cortes de 8  $\mu$ m (flores em antese e sementes menores) ou 14  $\mu$ m (sementes maiores) de espessura e as secções foram submetidas a dupla coloração com fucsina e azul de astra (Luque *et al.* 1996).

Para complementação deste estudo, amostras de óvulos foram submetidas à clarificação seguindo o método de Herr (Herr, 1971). Este material foi analisado com auxílio do equipamento de Interferência (DIC), acoplado a um microscópio Zeiss/Axioplan.

Para *Eriotheca gracilipes*, uma espécie sexuada e com sistema de incompatibilidade de ação tardia, foram feitas observações para tentar evidenciar o estágio onde ocorria e os mecanismos envolvidos no aborto dos pistilos auto-polinizados ou não polinizados (testes de apomixia). Foram coletados pistilos com 24h, 48h, 72h, 96h, 120h e 144h após a de autopolinização, polinização cruzada e apomixia, que foram fixados em FAA e conservados em álcool 70%. Posteriormente, dois pistilos de cada cruzamento tiveram seus óvulos (sementes) individualizados e conservados em água glicerizada 50%, e montados em uma lâmina de Raj (Radford *et al.* 1974). Foram medidos, ao microscópio, o maior e o menor diâmetro de vinte óvulos de cada pistilo, que foram transformadas em uma única medida de

área retangular (maior medida x menor medida). A análise de variância dos dados foi utilizada para definir se o padrão de crescimento dos óvulos (sementes) estava ou não relacionado com o tratamento de polinização como verificado por Gibbs *et al.* (1999).



### 3 . RESULTADOS

#### 3.1 . Polinizações e formação de frutos

O resultados dos cruzamentos realizados em *Eriotheca pubescens* no presente estudo estão apresentados na (Tabela 1) onde se nota que os frutos resultantes de autopolinização apresentaram uma taxa de sobrevivência maior que aqueles originados de polinização cruzada.

Os resultados dos cruzamentos em *Eriotheca gracilipes* (Tabela 1), demonstram uma baixa produção de frutos. Somente 1,78% dos tratamentos de polinização cruzada e, apenas 1,01% dos tratamentos de polinização natural formaram frutos, (somente um fruto resultante de cada tratamento). Todas as árvores tiveram uma baixa alocação de recursos para produção de frutos, sendo que uma delas, não formou nenhum fruto.

O número médio de sementes por fruto em *Eriotheca pubescens*, variou para os diferentes tratamentos (Tabela 2). Sendo que os frutos formados por autopolinização apresentam a maior média de  $16,86 \pm 4,22$  sementes por fruto, seguida pela polinização natural, que apresentou uma média de  $13,95 \pm 5,41$  sementes por fruto. A polinização cruzada apresentou a menor média de,  $11,12 \pm 6,69$  sementes por fruto. A média de sementes por fruto entre todos os tratamentos ficou em  $14,72 \pm 5,4$  sementes por fruto.

A comparação entre o número de sementes produzidas por fruto para cada tipo de tratamento, pelo método de ANOVA, evidenciou haver uma variação significativa entre os diferentes tratamentos ( $p=0,025617$ ). A análise post-hoc realizada com o método de Tukey HSD, indicou que os resultados de autopolinização foram significativamente diferentes daqueles obtidos por polinização cruzada ( $p=0,027602$ ). Nem autopolinização, nem polinização cruzada apresentaram diferenças estatísticas em relação à polinização natural ( $p=0,173629$  e  $p=0,392910$ , respectivamente).

O número médio de sementes/fruto encontrado em *Eriotheca gracilipes* foi de  $16,14 \pm 6,66$ . Muito similar ao número médio de sementes/fruto resultantes de autopolinização encontrados em *Eriotheca pubescens*. (Tabela 2).

**Tabela 1.** Percentagem de frutos maduros em diferentes tipos de cruzamentos realizados em indivíduos de *Eriotheca pubescens* da Reserva do Clube e Caça e Pesca Itororó e *Eriotheca gracilipes* no campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG no período de 07/06/2000 a 15/07/2000 (n= 3 árvores)

Tratamento	Percentagem (n° de frutos maduros/n° tratamentos)	
	<i>Eriotheca pubescens</i>	<i>Eriotheca gracilipes</i>
Autopolinização	13,24%(37/204)	0,00%(0/103)
Polinização Cruzada	7,92%(8/101)	1,78%(1/56)
Polinização Natural	33,33%(22/66)	1,01%(1/99)



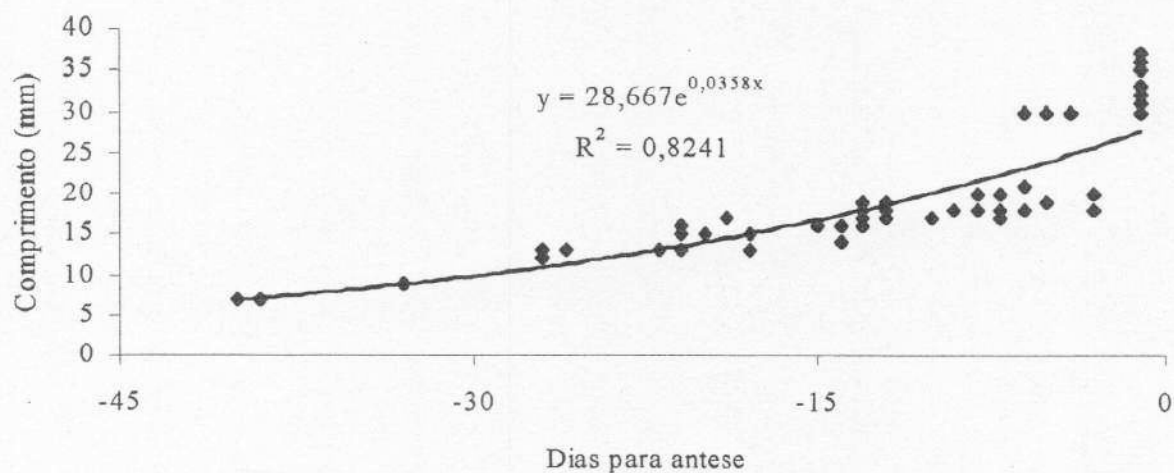
**Tabela 2.** Número de sementes por fruto em *Eriotheca pubescens* s na Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó e *Eriotheca gracilipes* do campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000 (n= 3 árvores)

	<i>Eriotheca pubescens</i>				<i>Eriotheca gracilipes</i>
	Autopol.	Pol. Cruzada	Pol. Natural	Todos	
Número de frutos	21	8	21	50	21
Número sementes	8 a 24	4 a 23	6 a 23	4 a 24	6 a 31
Média	16,86	11,12	13,95	14,72	16,14
Desvio Padrão	±4,22	±6,69	±5,41	±5,47	±6,66

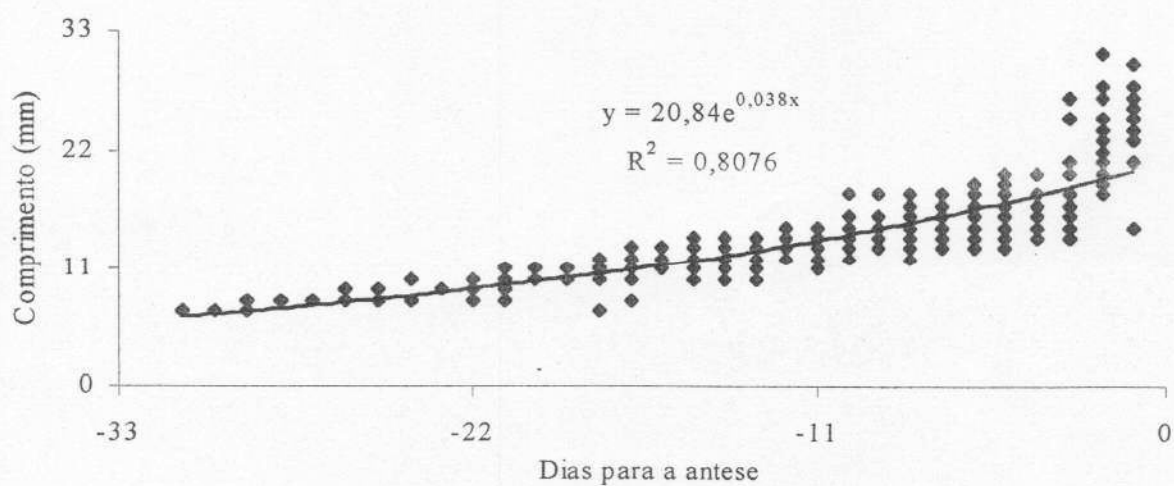
### 3.2 . Padrões de crescimento de botões florais e dos frutos

Os botões florais de *Eriotheca pubescens* e *Eriotheca gracilipes* apresentaram um padrão de crescimento exponencial, sendo que a equação e os gráficos de crescimento obtidos foram similares. (Figuras 1 e 2). Os gráficos para os frutos de *Eriotheca pubescens* mostraram crescimento logarítmico, tanto para cada tipo de tratamento: autopolinização, polinização cruzada e polinização natural, como para todos os dados agrupados. Já o gráfico do crescimento dos frutos de *Eriotheca gracilipes*, mostraram crescimento em potência, para o período analisado. Todas as equações e os coeficientes ( $R^2$ ) estão apresentados nas figuras. (Figura 3, 4, 5, 6 e 7)

A antese dos botões florais se deu em diferentes dias. Em *Eriotheca pubescens* a antese 41 dias após a menor medida de marcação, e em *Eriotheca gracilipes*, 31 dias após a menor medida de marcação.

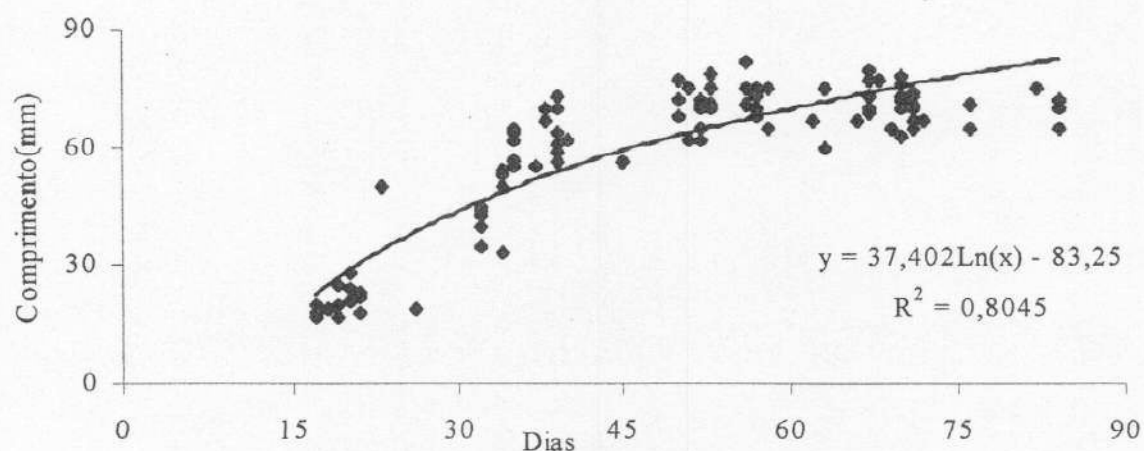


**Figura 1.** Medidas do tamanho de botões de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir dos indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000.

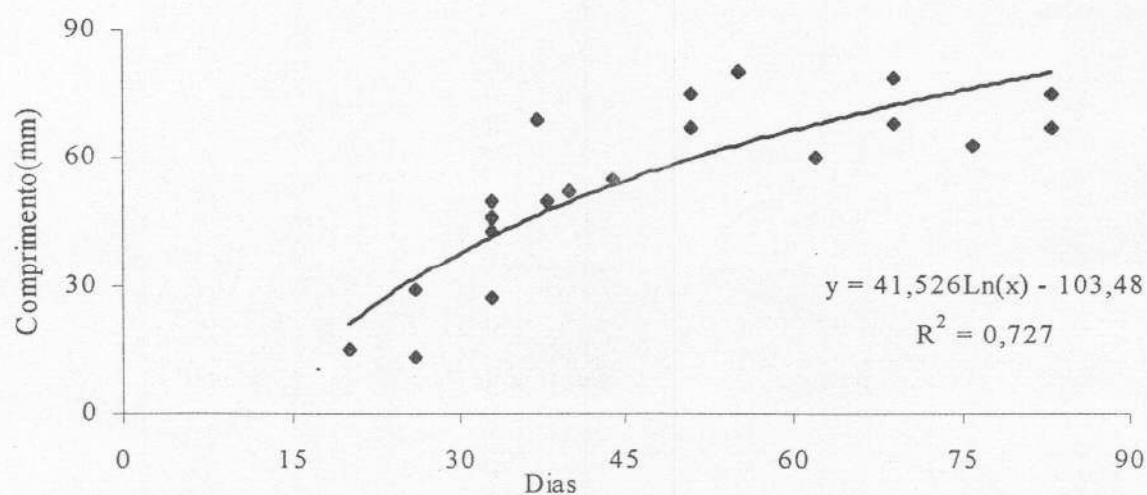


**Figura 2.** Medidas de tamanho de botões de *Eriotheca gracilipes*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir dos indivíduos do campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000.

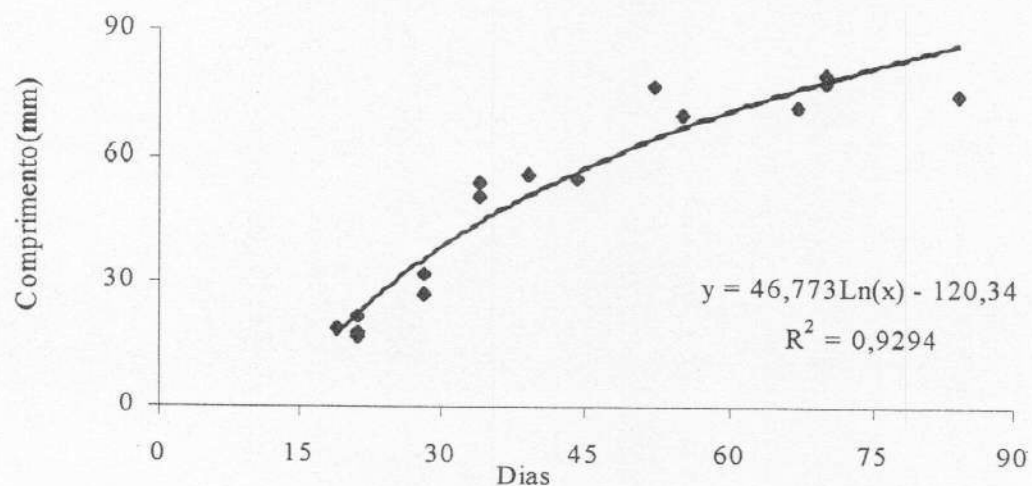




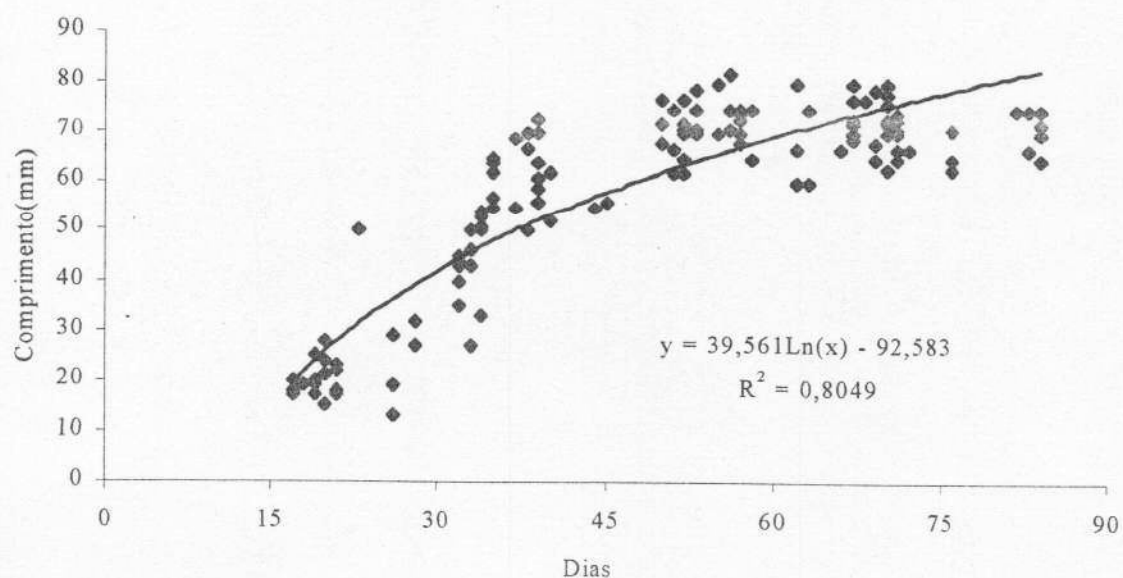
**Figura 3.** Medidas do tamanho de frutos resultantes de autopolinização de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir de indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000.



**Figura 4.** Medidas do tamanho de frutos resultantes de polinização cruzada de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir de indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000.

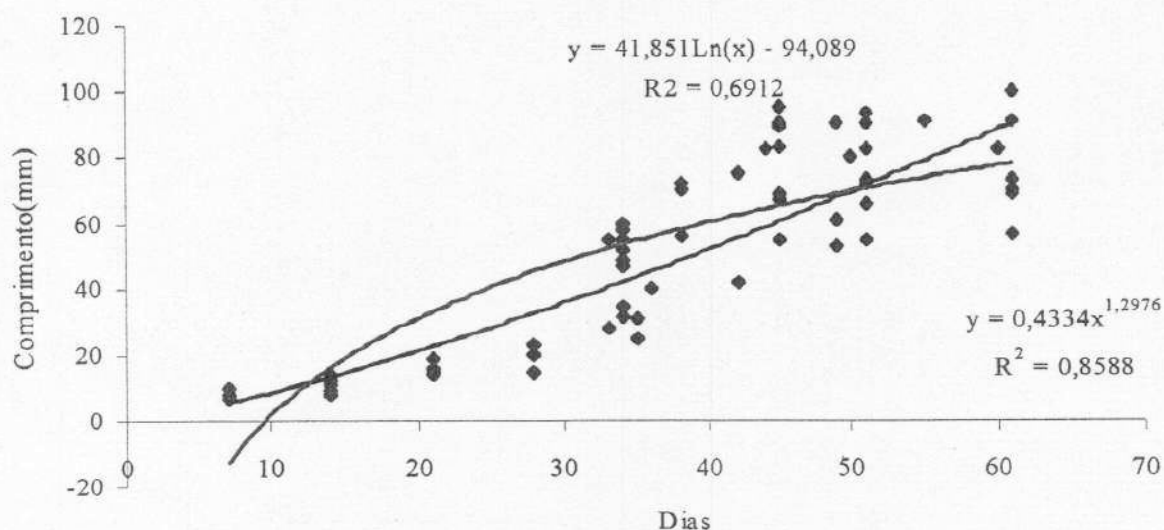


**Figura 5.** Medidas do tamanho de frutos resultantes de polinização natural de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir de indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000.



**Figura 6.** Medidas do tamanho de frutos resultantes de todos os tratamentos de *Eriotheca pubescens*, com as respectivas curva de regressão e equação. Dados obtidos a partir de indivíduos da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000.





**Figura 7.** Medidas de tamanho de frutos de *Eriotheca gracilipes*, com as respectivas curvas de regressão e equações. Dados obtidos a partir de indivíduos do campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia e da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó, em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000.

### 3.3 . Embriologia

Os óvulos de *Eriotheca pubescens*, sempre formam apenas um saco embrionário (Figura 8, a e b).

O zigoto permanece dormente até por volta do 26º dia após a polinização (Figura 8, c), e a primeira divisão foi observada no 28º dia, com a formação de um pro-embrião (não foi ilustrado). Embriões sexuados globulares foram observados entre 32 e 40 dias após a antese (não foi ilustrado). No entanto, em um único material aos 29 dias já se pôde observar um embrião sexuado cordiforme (não foi ilustrado).

Neste período, de 32 a 40 dias, evidenciou-se a formação dos embriões adventícios, sendo que, aos 32 dias foram observadas divisões em células do nucelo, que podem ser interpretadas como o início da formação dos embriões adventícios (Figura 8, d e e). Entre 39 e 40 dias, os embriões adventícios já foram formados, apresentam-se de ovalados à globulares, ainda em fases bem iniciais (Figura 8, f e g). Aos 44 dias estes embriões já se encontram

cordiformes (não foi ilustrado). Por último, aos 52 dias os embriões adventícios já se encontram com os cotilédones polarizados evidenciando-se que a polarização dos cotilédones é diferencial desde o início, originando embriões com cotilédones assimétricos (Figura 8; h, EA1 e EA2). Nesta mesma fase, aos 52 dias, foram observados embriões em estágios variados, alguns com um dos cotilédones quase que inexistente ou rudimentar (Figura 8; h, EA1) e outros ainda em estágio globular (Figura 8; h, ES?). Em alguns casos foi possível identificar um embrião mais central e, provavelmente, de origem sexuada (Figura 8; h, ES?). Não se evidenciaram diferenças quanto ao desenvolvimento dos embriões, para os diferentes tipos de cruzamentos.

Em *Eriotheca candolleana*, foi observado sempre um único saco embrionário, um único embrião sexuado e nenhuma indicação de formação de embriões adventícios (não foi ilustrado). As sementes de frutos com 12 mm de comprimento, ainda continham zigotos dormentes e frutos maiores que 21 mm e menores que 23 mm apresentavam embriões no início da fase globular, apesar de um fruto de 20 mm ter apresentado embrião já polarizado (não foi ilustrado). Nas sementes de frutos de 40 mm o embrião já se encontra totalmente polarizado e não apresenta diferenças significativas entre os cotilédones (Figura 8, i). Mesmo não tendo materiais datados de *Eriotheca candolleana*, o que parece diferenciar esta espécie das demais foi o rápido desenvolvimento dos embriões, sem a longa fase de dormência do zigoto observado nas outras duas espécies estudadas.

Em *Eriotheca gracilipes* foi observado sempre a formação de um único saco embrionário, um único embrião sexuado e nenhuma indicação de formação de embriões adventícios (não foi ilustrado). Aos 28 dias o embrião se encontra no início da fase globular, apresentando ainda poucas células e aos 36 dias já se encontra globular (não foi ilustrado). O embrião no início da formação dos cotilédones, já mostrando início da assimetria entre os cotilédones foi constatado aos 42 dias (Figura 8, j).



As análises dos óvulos submetidos à clarificação não apresentaram resultados satisfatórios. Apesar de termos retirado os tegumentos dos óvulos, posteriormente à imersão do fluido de Herr, não conseguimos uma boa visualização das estruturas do saco embrionário.

Figura 8. Ovarios e segmentos de fimbrias submetidos a P, C, D, E, L, G, H, I e J. Faltam mostrar os  
 resultados em que antes mostrando o saco amniótico (2B) e o espaço coelômico (2A); Esc = 20  
 µm; 2) Localiza do espaço coelômico durante a anise, mostrando a oofora (O) e as fimbrias  
 amplexadas (B); Esc = 12 µm; c) Seção de fimo, com 2 cm (corde de 20 dias de desenvolvimento  
 mostrando um embrião secundário (Emb) e núcleos de endoperitônio (Ent); Esc = 40 µm; d)  
 Seção de um fimo com 3 cm (corde de 22 dias) de desenvolvimento mostrando um embrião em  
 estágio anelido (Emb); Esc = 12 µm; e) Outra região da mesma seção mostrando  
 um grupo de células do anelido, semelhante aos tentáculos dos embriões adiantados (Emb); Esc =  
 40 µm; f) Seção de um fimo com 2,2 cm de comprimento (corde de 40 dias) mostrando dois  
 embriões adjacentes, em estágio globular (Emb); mostram as fimbrias (Fim); Esc = 40 µm; g)  
 Seção de um fimo com 3 cm (corde de 40 dias) de desenvolvimento mostrando um embrião  
 adiantado (Emb) e um outro embrião em estágio de desenvolvimento (Emb); que pode representar o  
 embrião secundário em o desenvolvimento secundário; Esc = 120 µm; h) Seção  
 de fimo com 10 cm (corde de 75 dias) de desenvolvimento mostrando dois embriões adiantados  
 (Emb) com os embriões primários e um embrião menor e mais central, que pode ser um  
 embrião terciário (Emb); Esc = 120 µm; i) Embriões castellanais - seção de uma camada de  
 um fimo com 10 cm de desenvolvimento, localizada no estágio anelido de fimo;  
 mostrando o embrião terciário (Emb) com os embriões primários (Emb) e secundários (Emb); Esc = 200 µm; j)  
 Embriões primários - seção de um fimo com 1,2 cm (corde de 42 dias) de  
 desenvolvimento, mostrando um embrião secundário (Emb) com os embriões primários (Emb);



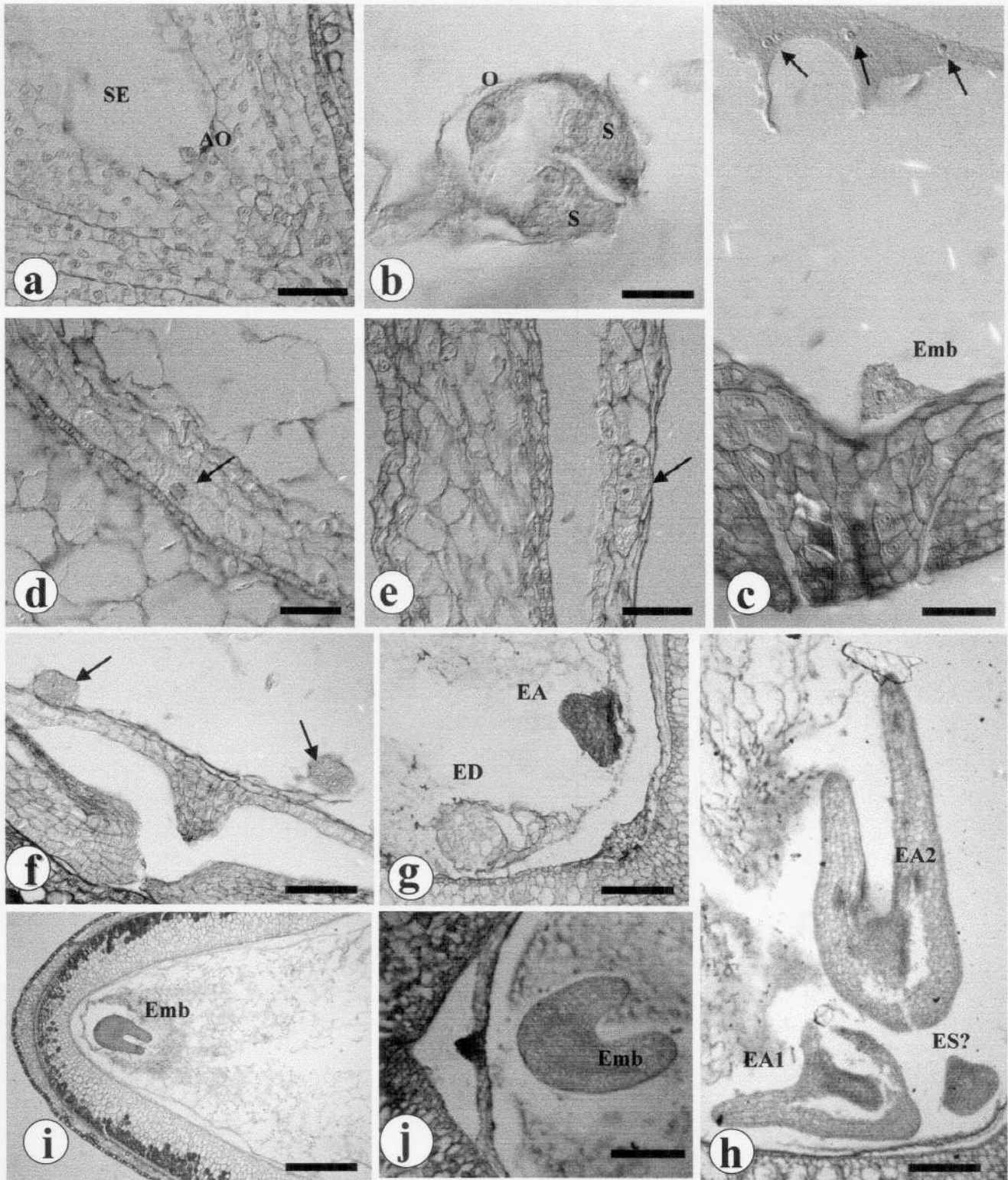


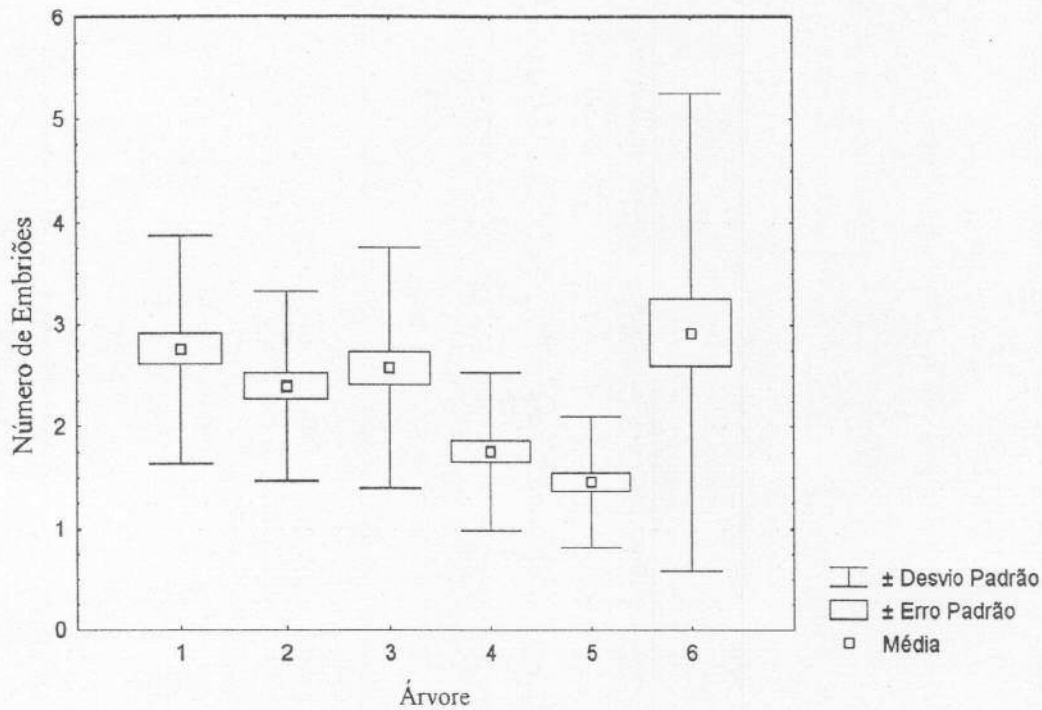
Fig. 8

### 3.4 . Distribuição dos embriões em *Eriotheca pubescens*.

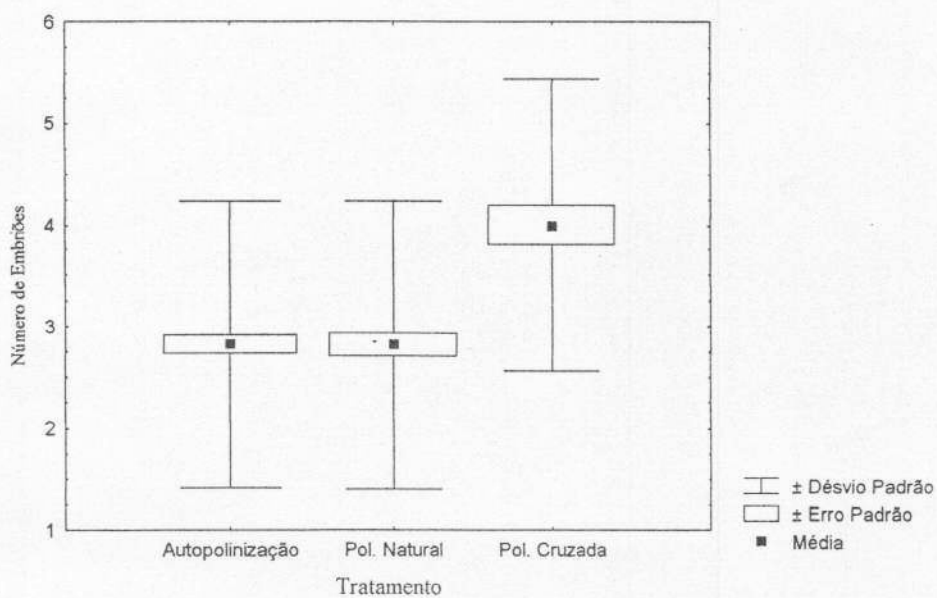
A análise do número médio de embriões/semente para diferentes árvores, demonstrou que as árvores isoladas no campo, sem nenhum outro indivíduo da mesma espécie nas proximidades, apresentaram uma média maior (Figura 9). Estas árvores eram as seguintes 1, 2, 3 e 6; e suas médias foram respectivamente  $2,76 \pm 1,64$ ;  $2,40 \pm 1,47$ ;  $2,50 \pm 1,40$  e  $2,92 \pm 0,58$  embriões por semente. As árvores que estavam agrupadas 4 e 5, mostraram médias menores respectivamente  $1,76 \pm 0,99$  e  $1,46 \pm 0,81$  embriões por semente. Sendo que estes dados apresentaram diferenças estatísticas, por árvore e entre as árvores, a um nível de significância de 1%.

Uma análise do número médio de embriões por semente para diferentes tipos de tratamentos: autopolinização, polinização cruzada e polinização natural, demonstrou que estes valores apresentam diferenças (Figura 10). Os frutos resultantes de autopolinização mostraram uma média de  $2,82 \pm 1,42$  embriões por semente e os frutos resultantes de polinização natural, uma média de  $2,82 \pm 1,40$  embriões por semente, sendo que foram similares. Já os frutos resultantes de polinização cruzada tiveram uma média muito superior de,  $4,00 \pm 2,56$  embriões por semente.





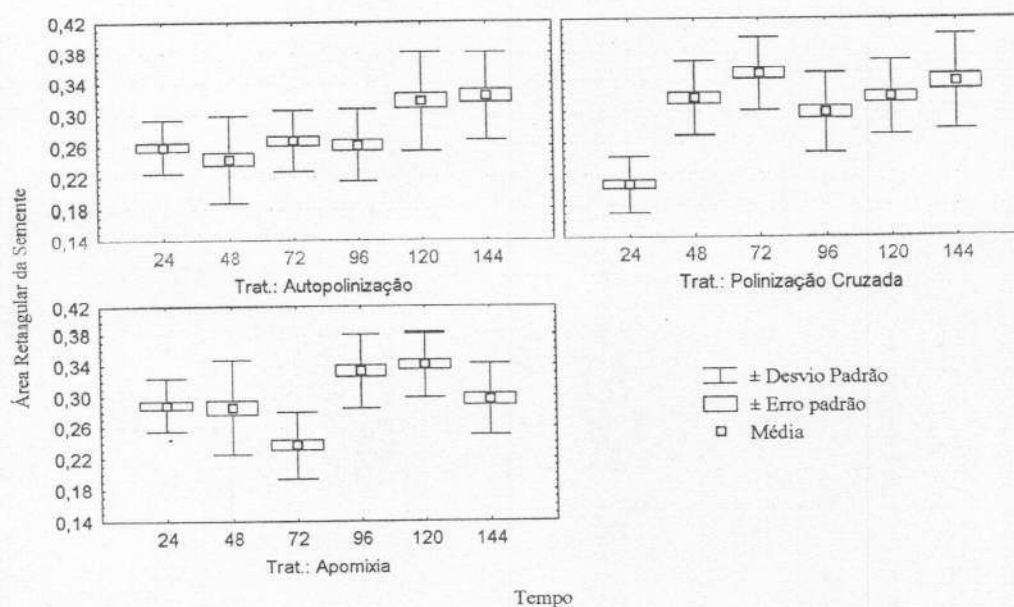
**Figura 9.** Número médio de embriões/sementes em árvores isoladas (1, 2, 3 e 6) e árvores agrupadas (4 e 5) de *Eriotheca pubescens* no município de Uberlândia - MG no ano de 2000.



**Figura 10.** Número médio de embriões para os diferentes tratamentos: autopolinização, polinização cruzada e polinização natural em *Eriotheca pubescens*. Dados obtidos a partir dos indivíduos do Clube Caça e Pesca Itororó em Uberlândia - MG, no período de Junho a Agosto de 2000

### 3.5 . Crescimento dos óvulos e/ou sementes em *Eriotheca gracilipes*

Em *Eriotheca gracilipes* o crescimento dos óvulos e/ou das sementes se deu sem um padrão definido para cada tipo de tratamento, apesar de apresentarem diferenças estatísticas entre os tratamentos através do método de ANOVA. Os óvulos de flores submetidas à autopolinização e à polinização cruzada têm um crescimento mais uniforme sendo que em 144h os óvulos e/ou sementes de flores submetidas à polinização cruzada são os maiores. Medidas feitas em outros horários mostram que as medidas são diferentes, mas em cada horário analisado os óvulos e/ou sementes de flores submetidas a um dos tratamentos é maior (Figura 11). A queda dos pistilos que não se desenvolveram se deu por volta do sétimo dia para todos os tratamentos.



**Figura 11.** Medidas da área retangular (comprimento maior x comprimento menor) de óvulos e/ou sementes de *Eriotheca gracilipes* depois de autopolinização, polinização cruzada e apomixia. Resultados de diferentes pistilos ( $n=2$ ) e óvulos ( $n=40$ ) medidos 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas após polinização. Dados obtidos a partir de indivíduos do campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, no período de Junho a Junho de 2000.



## 4. DISCUSSÃO

### 4.1 . Polinizações e formação de frutos

As polinizações controladas deram resultados, de maneira geral, semelhantes aos obtidos em estudos anteriores (Oliveira *et al.* 1992, Martins 1999). Os resultados mostraram a autocompatibilidade em *Eriotheca pubescens* e a auto-incompatibilidade em *Eriotheca gracilipes*.

É possível que as diferenças entre os tratamentos de autopolinização e polinização cruzada, em *Eriotheca pubescens*, sejam artefatos experimentais, visto que, apenas duas árvores foram utilizadas como doadoras de pólen para as polinizações cruzadas, dada à escassez de plantas floridas na área de estudo. Além disso, as flores usadas para polinizações cruzadas foram emasculadas no dia anterior a polinização, o que pode ter produzido danos irreparáveis na flor, que culminaram no aborto dos pistilos. Note-se que na polinização natural

a produção de frutos foi maior, até mesmo, que na autopolinização, sugerindo que os cruzamentos artificiais podem reduzir a frutificação.

O número médio de sementes por frutos, nos diferentes tratamentos, variou significativamente em *Eriotheca pubescens*, mostrando que a polinização natural apresenta um valor intermediário entre os outros dois tipos de tratamento.

Murawski & Hamrick (1992), trabalhando com *Ceiba petrandra* (L.) Gaertn. (Bombacaceae) encontraram que o polinizador ao visitar a flor, faz uma mistura de autopolinização e polinização cruzada, produzindo uma progênie mista. Eles encontraram indivíduos onde a progênie era originada totalmente de apenas um dos tipos de cruzamento.

No entanto, Gribel *et al.* (1999), constataram para a mesma espécie que, em uma árvore auto-incompatível, a mistura do próprio pólen ao das flores de uma outra árvore, afeta negativamente a produção de frutos e o número de sementes por fruto. Ao analisarem o número médio de sementes por fruto, encontraram que a menor média era a dos frutos formados por flores submetidas a polinização natural seguida pelos frutos resultantes de polinização mista ( 50% de pólen próprio e 50% de pólen de outro indivíduo), que obteve um valor intermediário e os frutos resultantes da polinização cruzada, que obtiveram o valor mais alto.

Talvez isto explique o resultado obtido em *Eriotheca pubescens*, onde os frutos obtidos por polinização natural, apresentaram um número intermediário de sementes por frutos em relação aos outros dois tratamentos. Estes frutos podem ter sido originados de uma mistura de pólen próprio e pólen de outro indivíduo promovendo, no caso de *Eriotheca pubescens*, uma diminuição do número de sementes por fruto.

Ao contrário do encontrado para as espécies de *Eriotheca* estudadas, Lim & Luders (1998), trabalhando com espécies de *Durio* (Bombacaceae), encontraram que os frutos resultantes de autopolinização tinham um número menor de sementes. Tudo isto mostra que a



produção de sementes/fruto é dependente do tipo de cruzamento e que pode variar muito de espécie para espécie na família Bombacaceae.

#### 4.2 . Padrões de crescimento de botões florais e dos frutos

Acreditamos que o gráfico de crescimento dos frutos de *Eriotheca gracilipes* seja logarítmico, uma vez que, o tempo de observação e o número dos frutos observados foi menor. Se este gráfico abordasse tempos maiores, a curva seria logarítmica, como foi pautada no gráfico apesar desta ter apresentado um coeficiente ( $R^2$ ) baixo, esta pode servir para comparações futuras.

Os gráficos parecem ser condizentes com o que se esperaria de um sistema biológico em crescimento (Waddington, 1979). No caso dos botões florais, o tamanho das pétalas vai aumentando lentamente e, próximo a antese, ocorre um crescimento muito rápido, devido a uma expansão dos tecidos e principalmente das pétalas. Esse crescimento se dá principalmente na forma de aumento do volume celular, produzido mais por um turgor de água do que pelo aumento do número de células (Taiz & Zeiger, 1998 p. 446-447). No caso dos frutos, o ritmo de crescimento é muito rápido em um primeiro momento, quando ocorre a embriogênese e se dá a formação da semente e do fruto propriamente. Com o tempo, o crescimento vai diminuindo, quando deve ocorrer somente o desenvolvimento dos embriões e de outras estruturas internas antes da maturação.

Resultados semelhantes para o crescimento dos botões foram encontrados por Carmo-Oliveira (1998), trabalhando com Vochysiaceae, onde a autora também encontrou um melhor ajuste para curva exponencial em *Callisthene major* Mart., apesar que, as outras espécies: *Vochysia cinnamomea* Pohl., *Salvertia convallariodora* St. Hill., *Qualea parviflora* Mart.; apresentaram melhor ajuste com regressão linear.

Dahl & Fredrikson (1996), trabalhando com *Betula pendula* (Betulaceae) observaram que após a antese a largura do ovário das flores femininas aumentavam lentamente, por uns poucos dias tanto em comprimento como em largura, e a partir de um certo momento aumentavam rapidamente em largura, sendo que a curva apresenta características exponenciais, já que o autor não especificou qual o melhor ajuste.

### 4.3 . Embriologia

Os estudos embriológicos confirmaram a origem adventícia da maioria dos embriões observados em *Eriotheca pubescens* e a natureza sexuada dos embriões encontrados nas outras duas espécies.

A formação de um único saco embrionário, fertilização e a formação de um zigoto ocorrem em todas as espécies estudadas. Nestas espécies o óvulo é anátropo, bitegumentado e crassinucleado com uma micrópila em zig-zag formada por ambos tegumentos, sendo estas características comuns à família Bombacaceae (Johri *et al.* 1992).

Os embriões adventícios de *Eriotheca pubescens* têm origem de células do nucelo, nas proximidades da micrópila, e o processo de diferenciação ocorre paralelamente ao de embriões aparentemente sexuados. No entanto os embriões adventícios parecem ter um crescimento mais rápido, nas fases iniciais e que posteriormente os embriões adventícios desenvolvem-se mais rapidamente que o sexuada, que os embriões sexuados. Este processo é semelhante ao observado em outras espécies apomíticas de Bombacaceae (Baker 1960, Duncan 1970).

Em *Pachira oleaginea* Decne (Baker, 1960), encontrou que os embriões sexuais começam seu desenvolvimento mais rápido que os adventícios. Por volta de 8 dias após a polinização os embriões adventícios, originam-se de células únicas do nucelo, nas vizinhanças



da micrópila. Estes embriões adventícios desenvolvem-se mais rapidamente que os outros. Acredita-se com isto que, quando maduros, os embriões maiores são de origem adventícia. O autor (loc cit) relata também a necessidade da polinização para a formação dos embriões adventícios.

Em *Bombacopsis glabra* (Pasq.) Robyns (Duncan, 1970), evidenciou-se a presença de embriões sexuados, com quatro ou cinco células, a partir de 20 dias após a polinização. Nesse mesmo estágio foram encontradas células do nucelo, nas vizinhanças da micrópila, que se dividiam e formavam massas de células com um conteúdo denso e grandes núcleos, que davam a origem aos embriões adventícios. Neste trabalho, também se evidenciou o crescimento mais rápido dos embriões adventícios em relação ao sexuado, um longo período de dormência do embrião sexuado e dos embriões adventícios, e a necessidade da polinização para a formação do embrião sexuado e dos embriões adventícios.

Um dos gêneros mais estudado sobre o tema de poliembrionia e embriões nucleares é o gênero *Citrus*. Koltunow *et al.* (1995), trabalhando com *Citrus sinensis* "Valencia", encontraram que somente óvulos fertilizados têm a capacidade de formar sementes poliembrionicas maduras e os embriões nucleares se formam, principalmente, na região micropilar. Após o estágio globular, os embriões apresentam-se de desenvolvimento assincrônico, sendo que, não foi possível diferenciar os embriões sexuados dos nucleares, e os embriões da região micropilar se desenvolvem mais rapidamente.

Nas sementes maduras, Koltunow *et al.* (1995), encontraram embriões no estágio globular, como o encontrado para *Eriotheca pubescens*. Apesar disto, em *Citrus*, os óvulos não fertilizados também tem a capacidade de desenvolverem embriões nucleares, principalmente, da região central, em direção a região calazal. No entanto estes embriões nucleares somente se desenvolvem até a fase globular. Segundo, Koltunow *et al.* (1995), o desenvolvimento dos embriões nucleares não necessitam do endosperma, e parecem se

utilizar do nucelo como fonte de recursos nutricionais. A ausência de endosperma e mesmo de espaço físico para o desenvolvimento, podem estar impedindo os embriões adventícios de evoluírem além da fase globular.

A frequência e a natureza adventícia dos embriões de *Eriotheca pubescens* sugere que populações inteiras destas plantas podem ter natureza clonal. Estudos moleculares utilizando RAPD (Martins, 1999) parecem confirmar tal natureza e a importância da apomixia na espécie.

Não foi possível evidenciar nenhum padrão diferencial de crescimento entre os embriões de pistilos submetidos aos diferentes tipos de tratamentos: autopolinização, polinização cruzada e polinização natural.

Um único embrião sexuado ocorre nas outras duas espécies de *Eriotheca* estudadas e o desenvolvimento de embriões adventícios não foi observado.

#### **4.4 . Distribuição dos embriões em *Eriotheca pubescens*.**

Em *Eriotheca pubescens*, a poliembrião adventícia foi observada comumente nos indivíduos, com o número de embriões por semente variando de 1 até 10. Apenas 1/4 das sementes analisadas apresentavam apenas um único embrião. A poliembrião ocorreu na maioria dos indivíduos ao longo da estrada Uberlândia-Brasília, sendo que houve diferença significativa entre a frequência de poliembrião em indivíduos isolados ou com vizinhos conspecíficos (Rodrigues *et al.* 2000). Estes resultados sugerem que a poliembrião não é um fenômeno limitado a populações estudadas no Jardim Botânico de Brasília por Oliveira *et al.* (1992) e no CCPIU, mas parece ser uma característica geral para a espécie. O número de embriões variou muito, mas foi difícil explicar os padrões observados. O isolamento de indivíduos e o possível predomínio de autopolinizações parece ter sido um fator que



aumentava o número de embriões por semente. No entanto, as análises que foram realizadas dos diversos tipos de tratamentos de polinização, demonstraram que o maior número de embriões aconteceu nos tratamentos de polinização cruzada. Este tipo de cruzamento é exatamente o que se esperaria que fosse o mais comum entre árvores próximas.

#### 4.5 . Crescimento dos óvulos e/ou sementes em *Eriotheca gracilipes*

O crescimento de óvulos em espécies com sistema de auto-incompatibilidade de ação tardia vem sendo descrito por diversos autores. Gribel *et al.* (1999) trabalhando com *Ceiba pentandra* constataram que os pistilos submetidos à autopolinização eram retidos por 5 a 7 dias, durante os quais, eles podiam apresentar algum crescimento. As flores submetidas à polinização cruzada, que não se desenvolveram em frutos, abortaram com 7 dias. As flores submetidas à polinização cruzada diurna e apomixia abortavam entre 12-48 h. Em *Eriotheca* as flores submetidas aos tratamentos de apomixia, autopolinização e à polinização cruzada, que não se desenvolveram em frutos, também abortam entre 6 e 7 dias, mostrando similaridades com os resultados do referido trabalho.

Gibbs & Bianchi (1999), trabalhando com *Dolichandra cynanchoides* Cham. e *Tabebuia nodosa* (Grisenb.) Grisenb., ambas Bignoniaceae, também encontraram um crescimento similar entre os óvulos autopolinizados e aqueles submetidos à polinização cruzada. Observou também que a penetração dos óvulos de flores submetidas à polinização cruzada só se dá nos primeiros dias, além do que, após um certo tempo, 96 h após o tratamento, os dois tratamentos têm proporções iguais de penetração.

Gibbs & Bianchi (1993), encontraram para *Tabebuia caraiba* e *Tabebuia ochracea* ambas Bignoniaceae, e em *Chorisia chodatii* Hassl. e *Chorisia speciosa* St. Hill., ambas Bombacaceae, os mesmos níveis de penetração de óvulos, tanto para a autopolinização quanto

para a polinização cruzada. Sendo que em ambos tratamentos ocorre fertilização do óvulo, forma-se um zigoto que permanece um certo tempo dormente e iniciam-se as divisões mitóticas do endosperma. Os autores propõem duas hipóteses para a rejeição: uma é que o estímulo que inicia a rejeição das flores autopolinizadas é acionado pela presença do seu próprio pólen sobre o estigma ou pelo crescimento dos tubos polínicos no estilete. Desta maneira a abscisão começa a ser dirigida pelo crescimento dos grãos de pólen, independentemente dos eventos no óvulo. Tal estímulo envolveria um sinal precoce e crítico, apesar das flores não-polinizadas caírem bem antes que as autopolinizadas. A outra hipótese é que o sinal pode se dar após a fertilização, desta maneira uma massa de óvulos autofertilizados no ovário, aparentemente desenvolvendo-se normalmente, poderiam enviar um tipo errado de feedback hormonal para a planta e causar uma abscisão rápida e precoce.

Gibbs *et al.* (1999), trabalhando com *Hymenaea stigonocarpa* encontraram um padrão bem determinado de crescimento, onde os óvulos submetidos à de polinização cruzada crescem mais que os submetidos à autopolinização, e os submetidos ao tratamento de apomixia não apresentam crescimento. Apesar disto, somente 96h após o tratamento, os óvulos submetidos à polinização cruzada mostraram um maior número de penetrações que aqueles autopolinizados.

Com isto acreditamos, baseados no encontrado para Bombacaceae (Gibbs & Bianchi, 1993), que a penetração dos óvulos em *Eriotheca gracilipes* deve ser semelhante para os dois tipos de tratamento, promovendo com isto um crescimento similar dos óvulos. Apesar de termos encontrado crescimento dos óvulos submetidos ao tratamento de apomixia, os mesmos foram aqueles que apresentaram crescimento mais desorganizado.

Importante salientar, que o indivíduo onde o experimento foi realizado apresentou uma produção de frutos muito baixa, e que estes resultados podem estar refletindo problemas reprodutivos deste indivíduo.



## 5. CONCLUSÕES

A conclusão mais importante do presente trabalho foi a confirmação de que *Eriotheca pubescens* é uma espécie apomítica, que produz um embrião sexuado e vários embriões adventícios de origem nucelar. As outras duas espécies, *Eriotheca gracilipes* e *Eriotheca candolleana*, por outro lado, são sexuadas e só produzem um único embrião sexuado.

Não foi possível relacionar em *Eriotheca pubescens* se o número médio de embriões é dependente do tipo de tratamento de polinização controlada. A poliembrionia ocorre em todos os tratamentos, e a variação no número de embriões não pôde ser explicada claramente pelos fatores testados.

As análises realizadas com *Eriotheca gracilipes* não explicaram, como os pistilos autopolinizados eram abortados nesta espécie auto-incompátivel, e o crescimento dos óvulos pós-fertilização não variou de maneira definida entre os diferentes tipos de tratamento.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ARISTA, M.; OLIVEIRA, P.E.; GIBBS, P.E.; TALAVERA, S. Pollination and Breeding system of two co-occurring *Hirtella* species (Chrysobalanaceae) in Central Brazil. Bot.Acta v. 110, p. 446-452, 1997.
- BAKER, H.G. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). Amer.J.Bot. v. 47, p. 296-302, 1960.
- BAUM, D.A.; OGINUMA K. A review of chromosome numbers in Bombacaceae with new counts for *Andsonia*. Táxon v. 43, p. 11-20, 1994.
- BAUMGRATZ, J.F.A.; SILVA, N.M.F. Ecologia da polinização e biologia da reprodução de *Miconia stenostachya* DC. (Melastomataceae). Rodriguésia v. 64/66, p. 11-23, 1988.
- BORALI, M.P. A Reserva Particular do Patrimônio Natural Caça e Pesca Itororó - Uberlândia - MG. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Uberlândia, 1996. 52p.



- CARMO-OLIVEIRA, R. Estudos embriológicos e aspectos da morfologia floral em Vochysiaceae. Tese (Doutorado em Ciências) IB USP. 1998. 151p.
- DAHL, A.E.; FREDRIKSON M. The timetable for developmental of maternal tissues sets the stage for male genomic selection in *Betula pendula* (Betulaceae). *Amer.J.Bot.* v. 83 (7), p. 895-902. 1996.
- DUNCAN, E.J. Ovule and embryo ontogenesis in *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A.Robyns. *Ann.Bot.* v. 34, p. 671-676, 1970.
- GIBBS, P.E.; BIANCHI M.B. Post pollination Events in Species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with Late-acting Self-incompatibility. *Bot.Acta* v.106, p. 64-71, 1993.
- GIBBS, P.E.; BIANCHI M.B. Does Late-acting Self-incompatibility (LSI) Show Family Clustering? Two More Species of Bignoniaceae with LSI: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. *Annals of Botany* v. 84, p. 449-457, 1999.
- GIBBS, P.E.; OLIVEIRA, P.E.; BIANCHI, M.B. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae-Caesalpinioideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. *Int. J. Plant Sci.* v. 160(1), p. 72-78, 1999.
- GOLDENBERG R.; SHEPHERD, G.J. Studies on the reproductive biology of *Melastomataceae* in "cerrado" vegetation. *Pl.Syst.Evol.* v. 211, p. 13-29, 1998.
- GRIBEL, R.; GIBBS, P.E.; QUEIROZ, A.L. 1999. Flowering phenology and pollination of *Ceiba pentrandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. *Journal of Tropical Ecology* v. 15, p. 247-263, 1998.
- HERR, J.M. A new clearing-squash technique for the study of ovule development in Angiosperms. *Amer.J.Bot.* v. 58, p. 785-790, 1971.
- HERINGER, E.P.; BARROSO, G.M.; RIZZO, J.A.; RIZZINI, C.T. A flora do cerrado. In: FERRI, M.G. IV Simpósio sobre o Cerrado. Itatiaia, Belo Horizonte. 1977. p. 211-232.
- JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. New York: MacGraw Hill Book Comp., 1940. 523p.

- JOHRI, B.M.; AMBEGAOKAR, K.B., SRIVASTAVA, P.S. Comparative embryology of Angiosperms. Vol. 1 Berlin: Springer-Verlag, 1992. p. 501-515
- JOLY, A. B. Introdução a taxonomia Vegetal. 5ª edição. Rio de Janeiro: Ed. Companhia Editora Nacional, 1979. 777p.
- KOLTUNOW, A.M. Apomixis: Embryo Sacs and Embryos Formed without Meiosis or Fertilization in Ovules. *The Plant Cell* v. 5, p. 1425-1437, 1993.
- KOLTUNOW, A.M.; SOLTYS, K.; NITO, N.; MCCLURE, S. Anther, ovule, seed, and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. *Valencia*. *Can. J. Bot.* v. 73, p. 1567-1582, 1995.
- KRAUS, J.; M. ARDUIN. Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal. Seropédica-RJ.: EDUR, 1997. 198p.
- LESRTEN, N.R.; CURTIS, J.D. Secretory reservoirs (ducts) of two kinds in giant ragweed (*Ambrosia trifida*; Asteraceae). *Amer. J. Bot.* v. 75(9), p. 1313-1323, 1988.
- LIM, T.K.; LUDERS L. Durian flowering, pollination and incompatibility studies. *Ann. appl. Biol.* v. 132, p. 151-165, 1998.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. vol. 1 Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1992. 352 p.
- LUQUE, R.; SOUZA, H.C.; KRAUS, J.E. Método de coloração de Roeser (1972) - modificado - Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. *Acta Bot. Brasilica* v.10(2), p. 199-212. 1996.
- MARTINS, R.L. Estudos genéticos em populações de *Eriotheca gracilipes* e *E. pubescens* (Bombacaceae) em uma área de cerrado de Uberlândia - MG. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Uberlândia, 1999. 40p.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J.L. Mating System and Phenology of *Ceiba petrandra* (Bombacaceae) in Central Panama. *The Journal of Heredity* v. 83(6), p. 401-404, 1992.
- OLIVEIRA, P.E.; GIBBS, P.E. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. *FLORA* 195, p. 311-329, 2000.



- OLIVEIRA, P.E.; GIBBS, P.E.; BARBOSA, A.A.; TALAVERA, S. Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. *Pl.Syst.Evol.* v. 179, p. 207-219. 1992.
- OLIVEIRA-FILHO, A.T.; RATTER, J.A. A study of the origin of Central Brazilian forests by the analysis of plant species distributions. *Edinb.J.Bot.* v. 52, p. 141-194, 1995.
- PRANCE, G.T. The phytogeography of savanna species of neotropical Chrysobalanaceae. In: Furley P.A.; Proctor J.; & Ratter J.A. *Nature and Dynamics of Forest-Savanna Boundaries*. London: Chapman & Hall, 1992. p. 295-330
- RADFORD, A.E.; DICKISON, W.C.; MASSEY, J.R.; BELL, C.R. *Vascular Plant Systematics*. New York: Harper & Row. 1974. 891 p.
- RIZZINI, C.T. Estudos sobre vicariância. *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro* v.23, p. 23-47, 1979.
- ROBYNS, A. Essai de monographie du genre *Bombax* s.L. (Bombacaceae). *Bull.Jard.Bot.Etat Brux.* v. 33, p. 1-315, 1963.
- RODRIGUES, C.M.; CARMO-OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, P.E.; TALAVERA, S.; ORTIZ, P.; ARISTA, M. 2000. Apomixia adventícia e embriologia em *Eriotheca* Schott et Endl. (Bombacaceae). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 51., 2000, Brasília, DF. Resumos... Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 2000. P. 340, ref. 108.
- ROSA, R.L.; LIMA, S.C.; ASSUNÇÃO, W.L. Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *Sociedade & Natureza* 3 v. 5 e 6, p. 91-108, 1991
- SASS, J. E. *Botanical Microtechnique*. 2nd ed. The Iowa State College Press. 1951. 281p.
- SAVIDAN, Y.H. Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia. In: AGUIAR-PERECIN, M.L.R.; MARTINS, P.S.; BRADEL G. I Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas. Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Genética, 1985. p. 37-50.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. *Biometry*. New York: Freeman. 1981. 859 p.
- TAIZ, T.; ZEIGER, E. *Plant physiology*. U.S.A.: Sinauer. 1998. 792 p.

WADDINGTON, C.H. O Homem e a Ciência: Instrumental para o pensamento. São Paulo: Ed. da Universidade de São Paulo, 1979. 242 p.

WEST, M.A.L.; HARADA, J.J. Embryogenesis in Higher Plants: na Overview. The Plant Cell v. 5, p. 1361-1369, 1993.