



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

Oferta de recursos e polimorfismos florais em uma flor de pólen

Larissa Chagas de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Lourenço Garcia de Brito

UBERLÂNDIA-MG

-2019-



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

Oferta de recursos e polimorfismos florais em uma flor de pólen

Larissa Chagas de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Lourenço Garcia de Brito

Dissertação de mestrado apresentada à
Universidade Federal de Uberlândia como
pré-requisito para a obtenção do título de
Mestre em Biologia Vegetal.

UBERLÂNDIA-MG

-2019-

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

O48o Oliveira, Larissa Chagas de, 1995
2019 Oferta de recursos e polimorfismos florais em uma flor de pólen
[recurso eletrônico] / Larissa Chagas de Oliveira. - 2019.

Orientador: Vinícius Lourenço Garcia de Brito.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1256>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Botânica. 2. Polinização. 3. Pólen. 4. Histoquímica. I. Brito,
Vinícius Lourenço Garcia de, (Orient.) II. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. III.
Título.

CDU: 581

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



Oferta de recursos e tipos florais de uma flor de pólen

Larissa Chagas de Oliveira

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Vinícius L G. Brito

Profa. Dr. Vinícius Lourenço Garcia de Brito - Orientador
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Examinadores:

G. Jackson Barônio
Dr. Guryan Jackson Barônio
Universidade Federal do ABC - UFABC

André Rodrigo Rocha
Prof. Dr. André Rodrigo Rocha
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM

Dissertação aprovada em: 28 /02 /2019.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação acadêmica e para a realização do presente trabalho.

Primeiramente, aos meus pais, que em todos os momentos estiveram ao meu lado me aconselhando e apoiando minhas escolhas.

Em especial ao meu orientador Prof. Dr. Vinicius Brito e coorientadora Prof. Dra. Ana Paula Caetano pela parceria, pelas conversas e aprendizados, pelo carinho e atenção.

Aos Prof. Dr. Paulo Eugênio Oliveira e Prof. Dr. Orlando Cavalari por disponibilizarem o LAMOVI-UFU, bem como diferentes materiais utilizados na realização dessa pesquisa.

Também ao Prof. Dr. Ladaslav Sodek e Departamento de Biologia Vegetal Unicamp também pelo espaço e material concedido para as análises em GC/EM e às colegas Dra. Mariane Azevedo e Rebecca pelo apoio concedido para preparação de material de pólen

Ao LAMEV- UFU e técnico pelo espaço e auxílio nas análises de varredura, ao colega Pedro Antunes e LECA pela ajuda na identificação de abelhas e ao Prof. Dr. Rodrigo Medel pelo auxílio com os modelos de seleção.

Agradeço aos meus colegas de trabalho do Nucleos de Estudos em Reprodução de Plantas (NERP UFU) pela colaboração em campos. Em especial à Renata Telles pelos dias ensolarados e chuvosos no campo, bem como pelo auxílio na contagem de pólen.

Ao Programa Demanda Social (DS) da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa e através do Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP) pelo financiamento de atividades do curso de pós-graduação. Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) e UFU também pelo suporte técnico e formativo.

Sem estas parcerias certamente este trabalho não teria se concretizado tão bem e no tempo certo. Muito obrigada a todos!!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
Referências	3
CAPÍTULO I	5
Abstract	6
Resumo	7
Introdução	8
Materiais e Métodos	10
<i>Área e espécie de estudo</i>	10
<i>Caracterização estrutural da glândula e natureza da secreção</i>	11
<i>Caracterização química da secreção</i>	12
<i>Caracterização dos visitantes florais</i>	12
Resultados	12
<i>Caracterização estrutural da glândula e natureza da secreção</i>	12
<i>Caracterização química da secreção</i>	13
<i>Visitantes florais</i>	13
Discussão	14
Referências	19
Tabelas e figuras	25
Material Suplementar	32
CAPÍTULO II	33

Abstract	34
Resumo	35
Introdução	36
Materiais e Métodos	39
<i>Sistema de estudo</i>	39
<i>Área de estudo e amostragem</i>	40
<i>Análises descritivas – atributos de ajuste morfológico e performance sexual</i>	41
<i>Sucesso reprodutivo feminino e masculino e seleção fenotípica</i>	43
Resultados	44
<i>Morfologia e Gênero</i>	45
<i>Sucesso reprodutivo e seleção fenotípica</i>	46
Discussão	46
Referências	52
Apêndice A - Tabelas e figuras	57
Apêndice B – Material Suplementar	60
CONSIDERAÇÕES FINAIS	68

INTRODUÇÃO GERAL

Como organismos sésseis, as plantas dependem de vetores abióticos (i.e. ar e água) ou bióticos (i.e. animais) para que a polinização e a dispersão ocorram. Neste evento, a relação estabelecida com os animais, em especial, tem grande expressividade na história evolutiva das Angiospermas. A interação de suas plantas com os polinizadores tem sido apontada como uma das forças que levaram à rápida diversificação do grupo (Fenster et al. 2004, Van der Niet & Johnson 2012). Diferentes atributos florais apresentam importante papel neste contexto, já que medeiam o estabelecimento destas interações (Faegri & Pijl 2013, Rech et al. 2014). Através da oferta e de recursos como pólen, néctar, óleos e resinas, as plantas atraem os potenciais polinizadores de suas flores (Barônio et al. 2018). Por outro lado, distintas morfologias, em especial de seus órgãos reprodutivos, viabilizam a acurácia na transferência de pólen entre as flores dado o ajuste morfológico estabelecido com estes agentes (Armbruster 2014, Cardoso et al. 2018). Assim variadas estratégias reprodutivas são expressas em razão da otimização da reprodução cruzada destas plantas, principalmente naquelas que exibem demandas conflitantes neste processo.

Nas plantas conhecidas como “flores de pólen”, por exemplo, além de servir como vetor dos gametas masculinos, os grãos de pólen também servem como principal recompensa aos visitantes florais (Vogel 1978). A demanda conflitante dada pela dupla funcionalidade deste recurso, que é limitado, gera um conflito evolutivo conhecido por “dilema de pólen” (Lunau et al. 2015). Na rota de evitar esse conflito essas plantas podem exibir diferentes estratégias, através de seus atributos florais, que otimizam o seu sucesso reprodutivo. Através da deiscência poricida das anteras algumas flores de pólen podem limitar a liberação deste recurso. Neste caso, comumente são as abelhas que vibram os agentes capazes de realizar a coleta ativa e eficaz deste recurso (Buchmann 1983, De Luca & Vallejo-Marín 2013, Cardinal et al. 2018). Assim, esta interação acaba caracterizando um sistema especializado de polinização por vibração nestas plantas.

A família Melastomataceae é bem conhecida pelas características acima. (Buchmann 1983, Renner 1989, Vallejo-Marín et al. 2010). Neste grupo diferentes polimorfismos florais, envolvendo variações morfológicas de seus órgãos reprodutivos, são apresentados (Barrett 2002, 2013, Cardoso et al. 2018). A heteranteria, por exemplo, é comumente verificada como um desses polimorfismos. Assim como para outras flores de pólen, nesta família este sistema floral representa uma importante estratégia de solução ao dilema de pólen. Estames diferentes em tamanhos, formas e cores principalmente, podem exibir uma divisão de trabalho, a qual viabiliza as duas demandas funcionais de seu pólen (Luo et al. 2008, Vallejo-Marín et al. 2009). Geralmente estames maiores, com cores mais crípticas, apresentam função de polinização e os menores, comumente amarelos e mais

conspícuos são voltados para a alimentação dos polinizadores (Vallejo-Marín et al. 2010, Velloso et al. 2018).

A heteranteria é usualmente associada a outras formas de polimorfismos florais como a enantiostilia e a heterostilia (Vallejo-Marín et al. 2010). Entretanto, diferente disso, em Melastomataceae estes sistemas florais são pouco ocorrentes. A heterostilia, em especial, foi somente apontada para a espécie deste estudo: *Macairea radula* (Bonpl.) DC. (Fracasso 2008, Oliveira et al., dados não publicados). Ainda nesta família, o hermafroditismo é um atributo bem conservado (Renner 1989). Embora muitas plantas sejam assim caracterizadas pela ocorrência temporal e espacial de estames e estiletes, nem sempre a presença de ambos os órgãos reprodutivos condiz com uma contribuição igual de gametas masculinos e femininos. Neste contexto a apresentação de distintos gêneros funcionais em razão uma alocação de esforço reprodutivo diferente nas funções feminina e masculina pode caracterizar outro tipo de estratégia reprodutiva destas plantas (Lloyd 1980, Lloyd & Bawa 1984, Barrett 2002). Embora a polinização por vibração seja predominante na família, a diversidade de suas espécies indica um platô adaptativo, a partir do qual a evolução para sistemas alternativos de polinização, e consequentemente de reprodução, podem ser canalizados (Dellinger et al. 2019). Esse evento deve ser articulado por mudanças em seus atributos florais como aquelas envolvendo a oferta de recursos, mecanismos de liberação de pólen e arranjo dos estames diferentes (Brito et al. 2016, 2017, Dellinger et al. 2014, 2019).

Em adição ao pólen algumas flores também podem ofertar óleos (Vogel 1974). Em Melastomataceae este caso é restrito à subfamília Olsbeoideae (Buchmamm 1987), mas um novo registro é apontado neste estudo. Juntamente a isto, mudanças nos atributos nos níveis morfológico ou de performance sexual, como os acima citados, indicam que através de distintas estratégias reprodutivas, diferentes caminhos evolutivos podem ser traçados no sistema de polinização e/ou reprodutivo destas plantas tipicamente caracterizadas como flores de pólen. Nesta perspectiva, a espécie *Macairea radula* foi escolhida como modelo deste estudo para entender como seus atributos florais e as estratégias por estes expressas estão relacionadas aos processos de mudanças no sistema reprodutivo de suas plantas e qual o papel dos polinizadores neste contexto.

REFERÊNCIAS

- Armbruster, W. S. (2014). Floral specialization and angiosperm diversity: phenotypic divergence, fitness trade-offs and realized pollination accuracy. *AoB Plants*, 6. doi.org/10.1093/aobpla/plu003
- Barônio G. J., Guimarães B. M. C., Oliveira L. C., Melo L. R. F., Antunes P. R., Cardoso R. K. D. O. A., Araújo T. N. (2018). Entre flores e visitantes: estratégias de disponibilização e coleta de recursos florais. *Oecologia Australis*, 22(4). doi.org/10.4257/oeco.2018.2204.04
- Barrett, S. C., Jesson, L. K., Baker, A. M. (2000). The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany*, 85(suppl 1), 253–265. doi.org/10.1006/anbo.1999.1067
- Barrett, S.C.H. (2002). The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 3: 274-284. doi: 10.1038/nrg776
- Barrett, S.C.H. (2013). The evolution of plant reproductive systems: how often are transitions irreversible? *Proc. R. Soc. B* 280, 20130913. doi.org/10.1098/rspb.2013.0913
- Brito V.L.G., Fendrich T.G., Smidt E.C., Varassin I.G., Goldenberg R. (2016). Shifts from specialised to generalised pollination systems in Miconieae (Melastomataceae) and their relation with anther morphology and seed number. *Plant Biology* 18: 585–593. doi.org/10.1111/plb.12432
- Brito V.L.G., Rech A.R., Ollerton J., Sazima M. (2017). Nectar production, reproductive success and the evolution of generalised pollination within a specialised pollen-rewarding plant family: a case study using *Miconia theizans*. *Plant Systematics and Evolution* 303: 709–718. doi: 10.1007/s00606-017-1405-z
- Buchmann S. L. (1983). Buzz pollination in angiosperms. In: Jones C.E., Litter R.J. (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. New York, Van Nostrand & Reinhold: 73-113.
- Buchmann S.L. (1987). The Ecology of Oil Flowers and their Bees. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 343–369.
- Cardinal, S., Buchmann, S. L., Russell, A. L. (2018). The evolution of floral sonication, a pollen foraging behavior used by bees (Anthophila). *Evolution*, 72(3), 590-600. doi.org/10.1111/evo.13446
- Cardoso, J. C. F., Viana, M. L., Matias, R., Furtado, M. T., Caetano, A. P. D. S., Consolaro, H., Brito, V. L. G. D. (2018). Towards a unified terminology for angiosperm reproductive systems. *Acta Botanica Brasilica*, 32(3), 329-348. dx.doi.org/10.1590/0102-33062018abb0124
- De Luca, P. A., Vallejo-Marín, M. (2013). What's the —buzz! about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 429–435. doi.org/10.1016/j.pbi.2013.05.002
- Dellinger A.S., Penneys D.S., Staedler Y.M., Fragner L., Weckwerth W., Scheonenberger J. (2014). A specialized bird pollination system with a bellows mechanism for pollen transfer and staminal food body rewards. *Current Biology* 24: 1615–1619. doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.056
- Dellinger A. S., Chartier M., Fernández-Fernández D., Penneys D. S., Alvear M., Almeda F., Michelangeli F. A., Staedler Y., Armbruster W. S., Schönenberger J. (2019). Beyond buzz-pollination—departures from an adaptive plateau lead to new pollination syndromes. *New Phytologist*. doi.org/10.1111/nph.15468

Faegri, K., & Van der Pijl, L. (2013). *Principles of pollination ecology*. Elsevier.

Fenster C. B., Armbruster W. S., Wilson P., Dudash M. R., Thomson J. D. (2004). Pollination syndromes and floral specialization. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 35, 375-403. doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347

Fracasso, C. M. (2008). Biologia da polinização e reprodução de espécies de Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra (MG). Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)- Universidade Federal de Campinas, Instituto de Biologia.

Lloyd, D. G. (1980). Sexual strategies in plants III. A quantitative method for describing the gender of plants. *New Zealand journal of botany*, 18(1), 103-108. doi.org/10.1080/0028825X.1980.10427235

Lloyd, D. G., Bawa, K. S. (1984). Modification of the gender of seed plants in varying conditions. *Evolutionary Biology* 17: 225-338.

Lunau, K., Piorek, V., Krohn, O., Pacini, E. (2015). Just spines—mechanical defense of malvaceous pollen against collection by corbiculate bees. *Apidologie*, 46(2), 144-149. doi: 10.1007/s13592-014-0310-5

Luo, Z., Zhang, D., Renner, S. S. (2008). Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin's division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology*, 22(5), 794-800. doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01444.x

Rech, A. R., Agostini, K., Oliveira, P. E., & Machado, I. C. (Eds.). (2014). *Biologia da polinização*. Projecto Cultural.

Renner S. S. (1989). A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 496-518. doi: 10.2307/2399497

Vallejo-Marín, M., Manson, J. S., Thomson, J. D., Barrett, S. C. (2009). Division of labour within flowers: heteranthery, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *Journal of evolutionary biology*, 22(4), 828-839. doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01693.x

Vallejo-Marín, M., Da Silva, E. M., Sargent, R. 82 D., Barrett, S. C. (2010). Trait correlates and functional significance of heteranthery in flowering plants. *New Phytologist*, 188(2), 418-425. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03430.x

Van der Niet, T., Johnson, S.D. (2012). Phylogenetic evidence for pollinator-driven diversification of angiosperms. *Trends Ecol. Evol.* 27, 353-361. doi.org/10.1016/j.tree.2012.02.002

Velloso, M. S. C., Brito, V. L. G., Caetano, A. P. S., Romero, R. 2018. Anther specializations related to the division of labor in *Microlicia cordata* (Spreng.) Cham.(Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica*, 32(3): 349-358.. doi.org/10.1590/0102-33062017abb0358

Vogel S. (1974). Olblumen und olsammelnde Bienen. *Trop. Subtrop. Pflwelt*, 7, 1-267.

Vogel S. (1978). Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. *The pollination of flowers by insects*.

Westerkamp C. (1996). Pollen in bee-flower relations - Some considerations on melittophily. *Botanica Acta*, 109(4), 325-332. doi.org/10.1111/j.1438-8677.1996.tb00580.x

CAPÍTULO I

Óleo como recompensa floral em uma família onde predominam flores de pólen – o caso de *Macairea radula* (Melastomataceae)

L. C. Oliveira¹, V. L. G. Brito², C.E.P.Nunes³, A.P. S. Caetano⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil

² Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil

³ Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

⁴ Departamento de Botânica e Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil

Correspondência

L.C. Oliveira, Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Av. Amazonas, 20 - Umuarama, CEP 38405-302, Uberlândia, MG, Brasil

E-mail: oliveiralarissach@gmail.com

ABSTRACT

- Melastomataceae is typically characterized by its high specialized pollen flowers, but little is known about oil offering in this family. Until now, this trait was only observed in Olisbeiodae tribe. However, other species, such as *Macairea radula*, present several staminal glands that secrete oil-like viscous substance which the role is still unknown. Such knowledge can help to elucidate the role of oil offering and the evolution of different reproductive strategies in specialized flowering plants.
- Anatomical sections and histochemical tests were performed to characterize the structure and their secretion as well as gas chromatography was used to chemical analysis. Floral visitors' observations were used for ecological interpretations.
- Each gland is a multicellular and multiseriate short stalk ending in a conspicuous multicellular secretory head. The histochemical tests indicate lipids and phenols in the secretion of glandular head cells. This content was exuded and accumulates on the gland surface beneath the cuticle. The chemical analyses confirmed the lipid nature of this substance and the occurrence of long-chain alkanes and nutritious fatty acids. Bees of the genus *Trigona*, *Centris* and *Augochloropsis* were the main floral visitors.
- *Macairea radula* staminal glands have a lipid secretion similar in composition to those plants that offer floral oils as the main resource to pollinators. Although being histologically different from trichomes, these glands can be functionally similar to oil flowers trichomatic elaiophores. Eventhough pollen is the main explored resource, the oils is passively collected by *Centris* bees, during buzz pollination This newly described floral resource characterizes a different strategy for this family where pollen flowers predominate.

Keywords

Buzz-pollination, elaiophores, floral trichomes, gas chromatography, histochemistry, oil flowers, staminal glands

RESUMO

- Melastomataceae é tipicamente caracterizada por suas flores de pólen altamente especializadas, mas pouco se sabe sobre a oferta de óleo nesta família. Até agora, este atributo só foi observado na tribo Olisbeioideae. No entanto, outras espécies, como *Macairea radula*, apresentam glândulas estaminais, que secretam uma substância viscosa semelhante a óleos, cujo papel ainda é desconhecido. Tal conhecimento poderia ajudar a elucidar questões como a oferta de óleo e a evolução de diferentes estratégias reprodutivas em plantas especializadas.
- Cortes anatômicos e testes histoquímicos foram realizados para caracterizar a estrutura e sua secreção, bem como análises de cromatografia gasosa para a descrição química dessas substâncias. Observações de visitantes florais foram usadas para interpretações ecológicas. Cada glândula é um pedúnculo curto multicelular e multisseriado, terminando em uma cabeça secretora conspícuia e multicelular.
- Os testes histoquímicos indicam a presença de lipídios e fenóis na secreção das células da cabeça glandular. Este conteúdo foi exsudado e se acumula na superfície da glândula. A análise química confirmou a natureza lipídica dessa secreção e a ocorrência de alcanos de cadeias longas e ácidos graxos de alimentação. Abelhas dos gêneros *Trigona*, *Centris* e *Augochloropsis* foram os principais visitantes florais.
- As glândulas estaminais de *M. radula* possuem secreção lipídica com composição semelhante à de plantas que oferecem óleos florais aos polinizadores como principal recurso. Embora difiram histologicamente de tricomas, estas glândulas podem ser funcionalmente semelhantes aos elaióforos tricomáticos de flores de óleo. Mesmo que o pólen seja o principal recurso explorado, os óleos são passivamente coletados por abelhas *Centris* durante polinização por vibração. O novo recurso floral descrito neste trabalho caracteriza uma estratégia incomum para esta família onde predominam as flores de pólen.

Palavras-chave

Cromatografia gasosa, elaióforos, flores de óleo, glândulas estaminais, histoquímica, polinização por vibração, tricomas florais

INTRODUÇÃO

Em todo o globo, acredita-se que 87% das plantas com flores dependam de vetores bióticos para reprodução, e essa estimativa chega a mais de 90% quando se trata de plantas que ocorrem nos trópicos (Ollerton *et al.* 2011). Essa dependência favoreceu diferentes estratégias de atração e recompensa na maioria dessas plantas. Geralmente, os animais buscam recursos (e.g. pólen, néctar, óleos, fragrâncias, resinas e tecidos) durante as visitas às flores para suprir suas demandas alimentares, reprodutivas ou de abrigo. Por outro lado, as plantas recebem os serviços da polinização (Simpson & Neff 1983, Barônio *et al.* 2018). Por promover benefícios que geralmente resultam em um aumento de valor adaptativo à ambos os interagentes, esta pode ser considerada uma relação de exploração mútua cujo o grau de obrigatoriedade dependerá do quão especializadas e integradas são essas adaptações (Fenster *et al.* 2004, Ollerton *et al.* 2007). Os recursos florais atuam como moduladores dessas interações e dentre estes, pólen e néctar são os principais e mais frequentemente ofertados (Barônio *et al.* 2018). O pólen, além de sua importância reprodutiva por transportar os gametas masculinos, é um componente altamente nutritivo para muitos animais, principalmente abelhas (Willmer 2011). Por outro lado, o néctar faz parte da dieta de uma gama mais ampla de animais, incluindo insetos, aves e morcegos, e tem sido apontado como o recurso floral mais explorado (Nicolson & Thornburg 2007).

Embora menos comum, algumas flores de diferentes famílias de angiospermas são capazes de secretar óleos que podem também atuar como recurso floral, exclusivamente ou em conjunto com o pólen e/ou néctar. Nessas “flores de óleo”, o material lipídico é secretado em diferentes partes da corola, do androceu, do gineceu e até mesmo do cálice, por células epidérmicas secretoras (elaióforos epiteliais) ou por tricomas glandulares (elaióforos tricomáticos) (Vogel 1974, Simpson & Neff 1981, Buchmann 1987). Esse óleo é um composto altamente energético, formado em grande parte por ácidos graxos, mono ou diglicerídeos e, em conjunto com o pólen, tem papel alimentar às larvas de abelhas, podendo ainda ser usado por estas como fonte de impermeabilização de células cria ou na promoção de uma melhor aderência dos grãos de pólen ao corpo destes insetos (Vogel 1974Buchmann 1987, Possobom & Machado 2017).

As flores de óleo parecem ter origem independente e surgimento único em várias famílias não relacionadas. Atualmente 14 famílias de angiospermas (Calceolariaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Gesneriaceae, Iridaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae, Melastomataceae, Orchidaceae, Plantaginaceae, Primulaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae e Stilbaceae) são conhecidas ou presumidas para a oferta de óleos florais, cuja coleta é realizada exclusivamente por abelhas com adaptações morfológicas e comportamentais (Buchmann 1987, Alves-Dos-Santos *et al.* 2007, Renner & Schaefer 2010, Possobom & Machado 2017). A maioria destas estão distribuídas entre as tribos Centridini, Ctenoplectrini, Tapinotaspidini e Tetrapediini alguns Meliponini da família

Apidae e nos gêneros *Macropis* e *Rediviva* da família Melittidae (Vogel 1974, Buchmann 1987, Alves-Dos-Santos *et al.* 2007). Ainda que essa coleta seja mais conhecida para representantes da família Malpighiaceae, uma forte relação entre a morfologia floral e a morfologia e comportamento das abelhas coletores de óleo é também verificada para flores de óleo de outras famílias (Possobom & Machado 2017). Geralmente essas abelhas são solitárias, fêmeas e apresentam adaptações nas pernas e, às vezes, abdômen ou tórax, caracterizadas pela presença de cerdas especializadas com padrões variados e relacionados aos diferentes tipos de glândulas secretoras de óleo e sua localização na flor. Durante a coleta agarram-se às pétalas posicionando a região ventral de seu abdômen sobre os estames e estigma da flor, onde por fricção ou raspagem realizam a coleta ativa de óleo nos elaióforos e, consequentemente, viabilizam a polinização (Vogel 1974, Sigrist & Sazima 2004, Alves-Dos-Santos *et al.* 2007).

Apesar de reportada a oferta de óleo em alguns representantes de Fabaceae, Gesneriaceae e Melastomataceae, estas não são sempre incluídas na listagem de famílias produtoras de óleo devido, sobretudo, ao desconhecimento da função ecológica deste componente e às poucas evidências de que suas estruturas secretoras sejam elaióforos verdadeiros (Possobom & Machado 2017). Em Melastomataceae, família com cerca de 170 gêneros e 5.400 espécies amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, a oferta de óleo parece ser algo restrito à subfamília Olisbeoideae (Buchmann 1987, Renner 1989). A produção de óleo em glândulas localizadas na face dorsal do conectivo das anteras caracteriza uma das sinapomorfias deste clado, um dos primeiros a se divergir em Melastomataceae. Conhecida por suas flores típicas e altamente especializadas na oferta de pólen, grande parte das espécies da família necessita da interação com um grupo específico de abelhas capazes de realizar vibração corporal para que a polinização ocorra, caracterizando a polinização por vibração (Buchmann 1983). Essa capacidade é reportada, entre outras tribos, para Centridini e representantes de Meliponini, abelhas que também podem buscar óleo nas flores, o que amplia as possibilidades de exploração de ambos os recursos (Alves-Dos-Santos *et al.* 2007).

Os óleos têm sua importância ecológica bem estabelecida, com o papel de suprir algumas das demandas dos visitantes florais (Simpson & Neff 1981). Nesta perspectiva, a oferta adicional deste recurso pode representar uma melhora na estratégia reprodutiva de algumas plantas, diminuindo certos conflitos ecológicos dados pela sua interação com visitantes florais. Em muitas espécies de Melastomataceae, por exemplo, a oferta de pólen como única recompensa representa um desses conflitos, conhecido como dilema de pólen dado à limitação e dupla funcionalidade do recurso (i.e. alimentação das abelhas e reprodução da planta) (Westerkamp 1996, Lunau 2015). A ocorrência de tricomas glandulares florais é reportada para diferentes linhagens da família, sobretudo em estudos taxonômicos de descrição morfológica (APSC observação pessoal, Martins *et al.* 2009). Entretanto, pouco se sabe sobre a estrutura, a natureza do conteúdo e a função destes,

dada a raridade de estudos voltados para estas perspectivas (Eyde & Teeri 1967). Além das sépalas, pétalas, hipanto e pistilo, esses tricomas são também observados nos estames, embora com menos frequência. Espécies de *Cambessedesia*, *Miconia* e *Tibouchina* são exemplos dos poucos registros de tricomas glandulares em estames (Renner *et al.* 1989, Guimarães *et al.* 1999, Fracasso & Sazima 2004). É possível que tais estruturas se tratem também de elaióforos, uma vez que, aparentemente, secretam uma substância viscosa semelhante a óleo (obs. pessoal) e que a ocorrência deste tipo de glândula já tenha sido apontada em Olsbeoideae. O conhecimento sobre a estrutura e o papel ecológico dessas glândulas, ajudaria a elucidar questões relacionadas à exploração por polinizadores diferentes daqueles caracterizados para o sistemas de polinização por vibração e evolução de diferentes estratégias reprodutivas em plantas especializadas, como a oferta de óleo em Melastomataceae, onde predominam as flores de pólen.

Macairea radula (Bonpl.) DC. apresenta estruturas glandulares nos estames semelhantes às que ocorrem em diversos outras espécies da mesma família e cuja secreção e funções não foram ainda esclarecidas (Buchmann & Buchmann 1981, Clausing & Renner 2001, Machado 2004). Neste trabalho buscamos compreender a estrutura e função de tais glândulas, com objetivos específicos de: (I) identificar os principais compostos por elas secretados, (II) verificar se estes são coletados pelos visitantes e (III) avaliar seu papel ecológico envolvendo o estabelecimento de interação com visitantes e potenciais polinizadores.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área e espécie de estudo

A coleta de dados foi realizada entre Agosto e Novembro nos anos de 2017 e 2018 em uma propriedade particular (Fazenda Ourinhos – 19°02'49.19"S 48°21'00.48"O). A área estudada é parte do bioma Cerrado com fragmentos de vereda e uma densa população de *Macairea radula*.

Macairea radula é uma espécie arbustiva que ocorre comumente em formações rupestres e savânicas, como o Cerrado (Renner 1989). Caracterizada pela oferta única de pólen, suas flores, organizadas em tirso multifloros, são tetrámeras e apresentam oito estames alternadamente dimorfos e anteras com deiscência poricida (de Oliveira e Silvia & Romero 2008, Bacci *et al.* 2016). Estruturas glandulares previamente descritas como tricomas são encontrados na face ventral dos filetes, bem como na porção inferior do estilete e ápice do ovário. Apesar de testes histoquímicos indicarem a presença de óleo na secreção dessas estruturas glandulares estaminais (APSC observação pessoal), a funcionalidade ecológica destes na flor é desconhecida. Para a distinção entre as estruturas glandulares encontradas nos estames de *M. radula* e aquelas localizadas em outras partes da flor, estas serão, daqui em diante, denominadas glândulas estaminais.

Caracterização estrutural da glândula e natureza da secreção

A caracterização estrutural da glândula foi realizada por meio de anatomia e exame de superfície, e a natureza da secreção indicada por testes histoquímicos. Para tais procedimentos, estames de botões florais e flores abertas ensacadas e visitadas foram coletados a partir de três indivíduos da área estudada. As amostras foram fixadas em Formalina Neutra Tamponada por aproximadamente 72 horas, lavadas em água destilada, desidratadas em série etanólica e estocadas em etanol 70% (Lillie 1965).

Para anatomia e histoquímica, os filetes foram desidratados em série etanólica e incluídos em resina plástica Leica (Gerrits 1991). Secções anatômicas longitudinais com aproximadamente 5 µm de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo e aderidas a lâminas de vidro. Parte das lâminas foram coradas em azul de toluidina 0,05% em tampão acetato, pH 4,4, (Feder & O'brien 1968) por cerca de cinco minutos, e montadas com água destilada no momento da observação. A natureza da secreção presente nas glândulas foi detectada nas demais lâminas por meio dos seguintes testes: Negro de Sudão B e Vermelho de Sudão IV para verificar a presença de lipídeos totais (Pearse 1980); Reagente de Nadi para detectar terpenoides (David & Carde 1964); Ácido Periódico de Schiff (PAS) para detectar polissacarídeos (Feder & O'Brien 1968), Tricloreto férreo para detecção de composto fenólicos (Johansen 1940), Xylidine de Ponceau para detectar proteínas (Vidal 1970) e Lugol para detecção de amido (Jensen 1940). Os testes com Negro de Sudão B, Vermelho de Sudão IV e Reagente de Nadi também foram realizados em material fresco, para melhor visualização do exsudato. As observações e fotografias foram feitas em fotomicroscópio Olympus BX51 com câmera digital acoplada Olympus DP70 12.5 megapixel.

Para o exame de superfície em microscopia eletrônica de varredura (MEV), estames fixados foram desidratados em série etanólica e série etanol:acetona (1:0, 1:1, 0:1), submetidos ao ponto crítico em aparelho Leica CPD 300, montados em suportes de alumínio com fita adesiva de carbono dupla face e posteriormente metalizados com ouro paládio 75nm (nanômetros) por 90 segundos em metalizador Leica EM SCD 050. As amostras foram examinadas em microscópio eletrônico de varredura Zeiss EVO/MA10.

Caracterização química da secreção

Filetes (n=80) de flores abertas não visitadas de três indivíduos foram coletados e armazenadas, por 5 minutos, em potes de vidro contendo solvente diclorometano (2ml), para extração da secreção. Posteriormente essas amostras foram filtradas por papel filtro e reduzidas sob fluxo de ar comprimido. As alíquotas remanescentes foram armazenadas em freezer (-20° C) até as análises, por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (GC-MS) QP2010 Shimadzu seguindo padrões metodológicos (adaptado de Nunes *et al.* 2017). Um µl do extrato em

diclorometano foi injetado diretamente no cromatógrafo gasoso com a câmara de injeção a 250 ° C em modo *splitless*. A separação dos compostos foi realizada em uma coluna capilar DB-5MS (J & W Agilent) de 30 m × 0,25 mm, espessura de filme 0,25 µm, com He (79,7 kPa) como gás de transporte a uma vazão de 1,3 ml min⁻¹. A temperatura da coluna GC foi inicialmente de 60 °C, aumentando linearmente 3° C por minuto até 240° C durante 60 minutos. Os dados cromatográficos foram analisados pelo software GC-MS Solution (Shimadzu) e os óleos florais foram identificados pela comparação do espectro de massa dos íons e do índice de retenção de Kovats com dados das plataformas NIST (<https://webbook.nist.gov/chemistry/>) e PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). A quantidade relativa dos compostos químicos na amostra foi tomada pela normalização das áreas de picos de íons totais (TIC) no cromatograma.

Caracterização dos visitantes florais

Os visitantes, bem como seu comportamento de forrageamento e coleta de recursos foram observados e coletados ao longo de expedições ao campo. A identificação no nível de gênero ou espécie foi feita com base nas coleções entomológicas e com auxílio de especialistas. Informações adicionais sobre registros de coleta de óleo por parte dos visitantes foram compiladas a partir de um levantamento bibliográfico a fim de estabelecer a relação desses animais com a coleta do recurso, bem como a eficiência na polinização. Esses visitantes foram categorizados quanto família/tríbo, tipo de recurso coletado (pólen /óleo), comportamento de coleta (vibração/raspagem) e modo de coleta de pólen. O modo de coleta de pólen seguiu categorização proposta por Renner (1983), Solís-Montero *et al.* (2015) e Mesquita-Neto *et al.* (2018) onde foram consideradas como (1) vibradoras de flores, abelhas que vibravam todas as anteras da flor durante uma única visita, (2) vibradoras de anteras, aquelas que vibravam uma ou algumas anteras por vez e (3) não-vibradoras aquelas que não vibravam e realizavam a coleta de pólen danificando as estruturas florais ou resgatando pólen residual aderido em diferentes partes florais após visitas de abelhas que vibravam.

RESULTADOS

Caracterização estrutural da glândula e natureza da secreção

As glândulas estaminais apresentam-se em grande quantidade e distribuídas na porção ventral dos filetes dos estames (Fig. 1A-B e 2A-D). O filete possui epiderme unisseriada recoberta por uma fina camada de cutícula, seguida de tecido parenquimático constituído por algumas poucas camadas de células que circundam um feixe vascular que ocupa posição central no órgão (Fig. 3A). É possível observar que o tecido parenquimático do filete é contínuo e parece se projetar para o pedúnculo da glândula, indicando a presença de tecido fundamental em tal estrutura (Fig. 3A-B). Estruturalmente, as glândulas se caracterizam por um pedúnculo curto multicelular e multisseriado,

e uma cabeça secretora multicelular conspícuia e globosa, recobertos por uma fina cutícula (Fig. 2C-D e Fig. 3A-C). Em flores visitadas, é possível ver a cutícula rompida na região distal da glândula (Fig. 2D). Os testes histoquímicos Negro de Sudão B, Vermelho de Sudão IV e Tricloreto Férrico foram positivos, indicando a presença de lipídios totais e compostos fenólicos (Fig. 4A-D). Grânulos de amido corados por Lugol foram observados no tecido parenquimático do filete subjacente às glândulas (Fig. 4D). A secreção pode ser observada no espaço intracelular das glândulas de botões e flores, como também recobrindo a superfície glandular (Fig. 3C e A-B).

Caracterização química da secreção

As análises cromatográficas dos extratos dos filetes apresentaram composição lipídica indicando principalmente a presença de ácidos graxos, alcanos e alcenos de cadeia média variando entre 15 e 22 carbonos, além de álcoois, ésteres, ácidos carboxílicos e terpenoides. Dentre os compostos identificados e caracterizados para na solução obtida com a imersão dos filetes em diclorometano, ácido octadecanóico (esteárico) retido em 36,24 minutos apresentou maior abundância relativa (12,36 %), seguido de octadecano (11,16%), nonadecano (9,99%), heptadecano (9,94%) e eicosano (7,45%). Além destes, substâncias como hexadecano (6,15%), heneicosano (4,82%), hexadecanol (4,34%), 2-metiloctadecano (3,82%) e tetradecanoato de metila (ácido mirístico na forma de ester metílico) (3,80%) também apresentaram quantidades significativas (Tabela 1). O perfil cromatográfico dos extratos de *M. radula* exibiu nos picos de retenção em 31.88, 35.59 e 36.24 minutos equivalência com ácidos graxos nutritivos referentes aos ácidos hexadecanóico, tetradecanoato de metila e octadecanóico (Fig. 5).

Visitantes florais

Abelhas da família Apidae, pertencentes às tribos Centridini e Meliponini, e da família Halictidae, pertencente à tribo Augochlorini, foram registradas visitando as flores de *M. radula* (Tabela 2). Dentre estas, apenas Centridini e Meliponini coletam óleo, embora com comportamentos diferentes. Em *Centris* sp. a coleta é realizada passivamente, com a fricção das glândulas durante o comportamento de vibração (material suplementar). Por outro lado as *Trigonas* (Meliponini) têm um comportamento de raspagem dos tecidos florais, incluindo nas regiões onde as glândulas estaminais se mostravam presentes. Durante a visita, as abelhas *Centris* sp. agarram-se às estruturas reprodutivas da flor e realizam a vibração da musculatura torácica, que dura alguns segundos. Após algumas visitas, num voo pairado defronte à flor ou apoiadas em galhos, realizam a limpeza do corpo, especialmente na região ventral do abdômen, com o auxílio das pernas anteriores e medianas, transferindo massas de pólen e óleo para as escopas nas pernas posteriores.

Todos os visitantes apresentaram também a coleta de pólen, porém com comportamentos diferentes. *Centris* sp. e *Augochlorini* sp. faziam isso pela vibração do corpo, levando a formação de uma nuvem de pólen que acaba se depositando em diferentes regiões de seus corpos. *Centris* sp. exibiram acoplamento morfológico às estruturas reprodutivas da flor, contatando os estigmas em todas as visitas, sendo caracterizadas como polinizadores efetivos. Por outro lado, as abelhas *Augochlorini* sp. vibram uma ou algumas anteras e nem sempre tocam as superfícies estigmáticas, atuando ocasionalmente como polinizadores. As abelhas do gênero *Trigona* realizavam a coleta ilegítima de pólen, danificando as estruturas reprodutivas da flor, o que nos leva a categorizá-las como pilhadoras.

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que as estruturas glandulares presentes nos estames das flores de *M. radula* apresentam secreção de caráter lipídico e composição semelhante à verificada em secreções de plantas conhecidas pela oferta de óleos florais. Embora difiram histologicamente de tricomas, essas glândulas estaminais podem ser consideradas funcionalmente semelhantes aos elaióforos tricomáticos caracterizados para flores de óleo. Apesar de ser o pólen o recurso primariamente coletado, os óleos podem também ser coletados passivamente durante a vibração realizada pelos polinizadores efetivos, abelhas *Centris*, dada à frequência relativa de visitas destes nas flores, contatando a superfície das glândulas, e sua caracterização para coleta deste recurso em outras flores de óleo. Essa oferta de recursos para além de pólen e néctar pode representar uma importante estratégia reprodutiva das plantas ao promover um aumento na atratividade e/ou reduções de conflitos ecológicos florais.

A variedade de composição das secreções e das estruturas especializadas na síntese e/ou acúmulo de óleos florais é ampla nas plantas. Os tricomas que apresentam estas características (i.e. tricomas glandulares), por exemplo, apresentam ampla distribuição entre as angiospermas (Castro & Machado 2006, Ascensão 2007). Por serem glândulas externas à planta é provável que a evolução das secreções e suas funções nessas estruturas resultem de pressões seletivas das interações com outras espécies, principalmente herbívoros e polinizadores (Duke 1994). A secreção de óleos florais não voláteis, por exemplo, é característica em plantas exploradas por abelhas coletores de óleo, que utilizam esse recurso para satisfazer demandas alimentares e/ou de abrigo. Ainda que morfologicamente diversas, as flores secretoras de óleos partilham entre si a presença de áreas especializadas para isto, os elaióforos epiteliais ou tricomáticos (Vogel 1974, Buchmann 1987, Possobom & Machado 2017). Em Melastomataceae, os registros sobre a produção de óleos florais estão associados à elaióforos epiteliais, comuns em flores de outras famílias que são tipicamente conhecidas pela oferta deste recurso, como Malpighiaceae, Krameriaeae e alguns

gêneros de Orchidaceae (Vogel 1974, Buchmann & Buchamann 1981, Simpson & Neff 1981, Buchmann 1987). Entretanto, as glândulas estaminais de *M. radula* são morfologicamente semelhantes à elaióforos do tipo tricomático, embora difiram histologicamente dos tricos pela presença de tecido fundamental (parênquima). Assim como em espécies das famílias Iridaceae, Curcubitaceae, Plantaginaceae e Solanaceae, a espécie estudada caracteriza-se pela secreção de óleo em áreas recobertas com grande densidade de estruturas glandulares (Vogel 1974, Simpson & Neff 1981, Buchmann 1987, Machado *et al.* 2002).

Embora não tenham sido evidenciados diretamente nas glândulas secretoras, a grande densidade de grânulos de amido no parênquima subjacente a estas estruturas deve estar relacionada com sua demanda energética e de manutenção. Considerando a função de reserva destes polissacarídeos em plantas, os grânulos de amido podem atuar como fontes de carbono e energia, suprindo o processo de secreção de lipídios nas glândulas estaminais (Zeeaman *et al.* 2010). Os compostos fenólicos encontrados na secreção podem exercer funções protetivas, além de levar a um aumento na atratividade floral. Dadas suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas, a presença desses compostos nas glândulas confere uma defesa contra intempéries não biológicas (e.g. radiação UV) e/ou biológicas (e.g. microorganismos e herbívoros), mas também provê a possibilidade de exploração por abelhas que, por exemplo, buscam por recursos como estes para a proteção de seus ninhos (Vinson 1996, 2006).

Dentre as muitas substâncias identificadas para Melastomataceae, os compostos fenólicos e terpenoides apresentam maiores destaques, embora hidrocarbonetos e ácidos graxos (e.g. esteárico, mirístico e palmítico) sejam também reportados em algumas espécies (Serna & Martinez 2015). A preexistência de compostos como estes, pode configurar na família a maquinaria bioquímica necessária para a produção de óleos florais que comumente se constituem destas substâncias. Mesmo que a produção original destas se dê em estratos diferentes da planta, principalmente nas folhas, e não se manifeste para funções de recurso floral, essa ocorrência já é um passo para evolução de estruturas glandulares que atuem nesse sentido, como evidenciado para *Mouriri* (Buchmann & Buchmann 1981, Buchmann 1987) e agora em *M. radula*.

O óleo é um recurso altamente energético, superando até mesmo o néctar em valores calóricos, o que lhe confere um papel de substituto na alimentação dos insetos que o coletam (Vogel 1974, Simpson & Neff 1981). Propriedades físico-químicas como o tamanho da cadeia, os graus de insaturação, bem como o grupo funcional a que pertencem, servem de indicadores sobre a qualidade dos compostos lipídicos como neste recurso (Solomons & Fryhle 1999). A qualidade do recurso oferecido pelas flores tem efeitos diretos na sua atratividade e, consequentemente, em seu sucesso reprodutivo, uma vez que influencia a relação com potenciais polinizadores que buscam por estes (Barônio *et al* 2018). Embora não tenham exibido comportamento estereotipado para a coleta de

óleo e, aparentemente o pólen seja o recursoativamente coletado, é plausível que as abelhas *Centris* sp, coletem esta secreção de forma passiva, durante a vibração dos músculos das asas, comportamento conhecido como “buzz-pollination” (Buchmann 1983).

Geralmente a eliminação da secreção em estruturas glandulares pode seguir por vias espontâneas, através de microporos na cutícula ou por pressões abióticas e bióticas que levam a ruptura desta (Ascensão *et al.* 1999). A análise de superfície nos possibilitou observar a presença de rupturas na cutícula da superfície da cabeça secretoras das glândulas estaminais de flores visitadas de *M. radula*. É provável que o mecanismo de polinização por vibração, característico dos polinizadores efetivos da espécie, promova uma fricção que leva ao rompimento desta camada e ao extravasamento da secreção lipídica, que é alocada no corpo das abelhas. Nesse sentido, estes óleos florais, também podem propiciar uma melhor aderência do pólen ao corpo do polinizador durante a visita. Essa funcionalidade pode resultar em uma importante estratégia para diminuir o dilema de pólen, por reduzir a quantidade deste recurso que pode ser perdida durante o transporte ou mesmo na nuvem de pólen formada durante a visita (Westerkamp 1996, Lunau *et al.* 2015). Em *Mouriri* esse papel de aderência atribuído à secreção, por alguns também denominada de *pollenkitt* externo, tem sido comumente adotado para atribuir usos ecológicos do óleo como recurso (Buchmann 1987, Oliveira 2016).

Além de importante fonte energética, os lipídios também são usados na construção, proteção e/ou impermeabilização de ninhos de algumas abelhas (Vogel 1974, Simpson & Neff 1981, Vinson 1996, 2006, Alves-Do-Santos 2007). Ainda que para Melastomataceae o uso ecológico do óleo por abelhas seja pouco claro, utilidades alimentares, quando em conjunto com pólen, e construtivas têm sido sugeridas (Buchmann 1987). Ácidos mirísticos, como aqueles encontrados na forma de éster metílico no óleo de *M. radula*, estão relacionados a propriedades antimicrobianas. A presença de compostos como esse indica o importante papel desses óleos na defesa de ninhos contra microrganismos, especialmente de abelhas como *Centris* que nidificam em solos úmidos (Frankie *et al.* 1988). Além da atuação como impermeabilizantes, hidrocarbonetos de cadeias em números ímpares de carbonos, como heptadecano, (C7) e nonadecano (C9) e longas como heneicosano (C21) e tricosano (C23), observados em grandes abundâncias no óleo da espécie estudada, são também reportados para funções antifúngico-bacterianas e de feromônios. Essas propriedades apontam a utilidade do recurso como pistas de reconhecimento de indivíduos e até mesmo de célula cria, como já verificado em *Centris* (Cane & Brooks 1986, Vinson *et al.* 1997, Oliveira *et al.* 2015). Além disso, alguns compostos lipídicos reportados para funções alimentares e de construção de ninho em outros táxons caracterizados para a oferta e exploração de óleos florais foram similarmente encontrados em *M. radula*. A presença de ácidos octadecanóico, hexadecanóico, cis-9-octadecanóico e tetradecanóico como aqueles em Malpighiaceae e *Mouriri* (Melastomataceae),

ácidos eicosanóico e os mesmos ácidos anteriores em suas formas acetoxi em Krameriaceae, Scrophularaceae e Primulaceae (Possobom & Machado 2017) reforçam a ideia de que em *M. radula*, os óleos florais também podem ser utilizados como recurso pelos polinizadores.

As cerdas modificadas nas pernas ou abdômen e adaptadas para a coleta de óleo são comumente relacionadas com o tipo de elaióforo explorado (Buchmann 1987, Renner & Schaefer 2010, Possobom & Machado 2017). Nas Centridini essas adaptações estão presentes nas quatro pernas (anteriores e médias) num padrão denominado *four-legged* e estão geralmente associadas à exploração de elaióforos epidérmicos (Vogel 1974). Em *M. radula* essa exploração está relacionada a outro tipo de estrutura secretora, já que suas glândulas estaminais apresentam aspecto tricomático. Embora tais adaptações morfológicas e um comportamento estereotipado envolvendo o uso de pares de pernas na raspagem dos elaióforos para a coleta de óleo seja recorrente na literatura, outras modificações estruturais e comportamentais podem ser observadas nesses ou em grupos diferentes de abelhas. Em algumas espécies de *Centris*, por exemplo, somente as pernas anteriores apresentam modificações e são usadas para a coleta de óleo (Machado *et al.* 2002, Alves-Dos-Santos *et al.* 2007). Em algumas Tapinotaspidini, as cerdas estão localizadas no abdômen e são associadas a exploração de lipídios em tricomas extraflorais (*Tapinotaspoides*), enquanto em outras é detectado um comportamento de movimentos circulares para coleta desse recurso em elaióforos tricomáticos (*Lanthanomelissa*) (Melo & Gagianone 2005).

Em *M. radula*, o comportamento de raspagem diretamente na flor não é observado como previsto em estudos de coleta de óleo por *Centris*, mas essa ação é verificada após as visitas das abelhas às flores. O óleo possivelmente liberado por fricção ocasionada pela vibração corporal dessas abelhas pode ser, juntamente com massas de pólen, transferido e armazenado nas escopas das pernas posteriores com auxílio das pernas anteriores, caracterizando o comportamento de limpeza, comumente observado em abelhas coletores de óleo. O comportamento de raspagem para a exploração de óleo em Melastomataceae é retratado para as glândulas de *Mouriri* por abelhas Meliponini (trigonas e meliponas) (Buchmann & Buchmann 1981). Além de abelhas *Centris* e *Augochlorini*, trigonas também foram observadas como visitantes de *M. radula*. Embora possam coletar óleo, essas abelhas inviabilizam a polinização, já que não são vibradoras e não contatam o estigma. Geralmente elas se detêm em apenas uma estrutura floral, podendo danificá-las completamente. Nesse sentido, a oferta de um recurso de forma acessível na flor, dada a exposição das glândulas nos estames, pode configurar outra estratégia da planta, reduzindo conflitos ecológicos causados pela pilhagem realizada por essas abelhas (Renner 1983, Hargreaves *et al.* 2009). Apesar de haver relatos de exploração de glândulas de óleo de outra espécie por representantes de Halictidae (*Megalopta amoena*), abelhas *Augochlorini* não possuem esse comportamento, entretanto suas visitas em flores de *M. radula* podem ocasionar polinizações nos

casos em que contatam diretamente os estigmas destas ou viabilizam esse processo pelas nuvens de pólen formadas pelo seu comportamento de vibração (LCO, observação pessoal).

A família Melastomataceae é tipicamente conhecida pelo seu sistema de polinização especializado, envolvendo a interação de flores de pólen com abelhas vibradoras. Embora 98% das espécies desse grupo sejam polinizadas por vibração, a grande diversidade floral destas apontam um platô adaptativo à este sistema no qual a evolução de sistemas alternativos de polinização na família pode ter sido canalizada (Dellinger *et al.* 2019). Alguns estudos têm mostrado deslocamentos desse sistema envolvendo trocas de polinizadores mediadas por mudanças na oferta de recursos (Dellinger *et al.* 2014; Brito *et al.* 2016, 2017). A produção de um recurso diferente ao comumente ofertado pode representar um papel importante no aumento da diversidade de visitantes e potenciais polinizadores de *M. radula*. Juntamente ao pólen essa oferta pode favorecer uma partição de nicho entre os diferentes visitantes caracterizados, reduzindo a competição entre abelhas vibradoras e não-vibradoras e, consequentemente, conflitos ecológicos relacionados a oferta exclusiva de um único recurso (i.e. pólen) e a pilhagem. A variedade e quantidade de recursos ofertados pelas flores são importantes fatores no estabelecimento e manutenção de interações com seus visitantes (Barônio *et al.* 2017, 2018). A oferta de óleo em especial, pode representar uma estratégia evolutiva que otimiza a polinização de diferentes espécies que dispõem desse recurso para atrair seus potenciais polinizadores (Vogel 1974, Buchmann 1987, Possobom & Machado 2017). Embora a oferta de óleos florais seja uma área ainda pouco explorada para a família Melastomataceae, nossos resultados podem ajudar na elucidação de questões como estas relacionadas à evolução de diferentes estratégias reprodutivas em plantas especializadas

AGRADECIMENTOS

Todos os autores agradecem à Pedro R. Antunes e LECA - UFU pela identificação das abelhas, aos professores Paulo Eugênio A. M. Oliveira e Orlando Cavalari pelo laboratório (LAMOVI - UFU) e material concedido para as análises anatômicas, ao professor Ladaslav Sodek e Departamento de Biologia Vegetal Unicamp também pelo espaço e material concedido para as análises em GC/EM. Ao LAMEV- UFU e técnico e Renata Trevizan Telles pelo espaço e auxílio nas análises de varredura. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

REFERÊNCIAS

- Aguiar C. M. L., Zanella F. C. V., Martins C. F., Carvalho C. A. L. D. (2003). Plantas visitadas por *Centris* spp. (Hymenoptera: Apidae) na Caatinga para obtenção de recursos florais.
- Albuquerque P. D., Mendonça J. A. C. (1996). Anthophoridae (Hymenoptera; Apoidea) e flora associada em uma formação de cerrado no município de Barreirinhas, MA, Brasil. *Acta Amazônica*, **26(1/2)**, 45-54.
- Alves-dos-Santos I., Machado I. C., Gaglianone M. C. (2007). História natural das abelhas coletores de óleo. *Oecologia Brasiliensis*, **11(4)**, 544-557.
- Ascensão L. (2007). Estruturas secretoras em plantas: uma abordagem morfo-anatómica. *Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais*. Lisboa: Faculdade de Ciências de Lisboa, 19-28.
- Ascensão L., Mota L., de Castro M. (1999). Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Annals of Botany*, **84(4)**, 437-447. doi.org/10.1006/anbo.1999.0937
- Bacci L. F., Versiane A. F. A., Oliveira A. L. F., Romero R. (2016). Melastomataceae na RPPN do Clube Caça e Pesca Itororó, Uberlândia, MG, Brasil. *Hoehnea*, **43(4)**, 541-556. dx.doi.org/10.1590/2236-8906-27/2016
- Barônio G. J., Haleem M. A., Marsaioli A. J., Torezan-Silingardi H. M. (2017). Characterization of Malpighiaceae flower-visitor interactions in a Brazilian savannah: How do floral resources and visitor abundance change over time. *Flora*, **234**, 126-134. doi.org/10.1016/j.flora.2017.07.015
- Barônio G. J., Guimarães B. M. C., Oliveira L. C., Melo L. R. F., Antunes P. R., Cardoso R. K. D. O.A., Araújo T. N. (2018). Entre flores e visitantes: estratégias de disponibilização e coleta de recursos florais. *Oecologia Australis*, **22(4)**. doi.org/10.4257/oeco.2018.2204.04
- Bezerra E. L., Machado I. C., Mello, M. A. (2009). Pollination networks of oil-flowers: a tiny world within the smallest of all worlds. *Journal of Animal Ecology*, **78(5)**, 1096-1101. doi.org/10.1111/j.1365-2656.2009.01567.x
- Brito V. L. G., Fendrich T. G., Smidt E. C., Varassin I. G., Goldenberg R. (2016). Shifts from specialised to generalised pollination systems in Miconieae (Melastomataceae) and their relation with anther morphology and seed number. *Plant Biology* **18**: 585–593. doi.org/10.1111/plb.12432
- Brito V. L. G., Rech A. R., Ollerton J., Sazima M. (2017). Nectar production, reproductive success and the evolution of generalised pollination within a specialised pollen-rewarding plant family: a case study using *Miconia theizans*. *Plant Systematics and Evolution* **303**: 709–718. doi: 10.1007/s00606-017-1405-z
- Buchmann S. L., Buchmann M. D. (1981). Anthecology of *Mouriri myrtilloides* (Melastomataceae: Memecyleae), an oil flower in Panama. *Biotropica*, 7-24. doi: 10.2307/2388066

Buchmann S. L. (1983). Buzz pollination in angiosperms. In: Jones C.E., Litter R.J. (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. New York, Van Nostrand & Reinhold: 73-113.

Buchmann S. L. (1987). The Ecology of Oil Flowers and their Bees. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 343–369.

Cane J. H., Brooks R. W. (1983). Dufour's gland lipid chemistry of three species of *Centris* bees (Hymenoptera: Apoidea, Anthophoridae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, **76(4)**, 895-897. doi.org/10.1016/0305-0491(83)90409-1

Carneiro L. T., Aguiar A. J. C., Martins C. F., Machado I. C., Alves-dos-Santos, I. (2015). *Krameria tomentosa* oil flowers and their pollinators: bees specialized on trichome elaiophores exploit its epithelial oil glands. *Flora* 215: 1-8. doi.org/10.1016/j.flora.2015.06.002

Castro M. M., Machado S. R. (2006). Células e tecidos secretores. In: Appezzato da Glória B., Carmello-Guerreiro S.M. *Anatomia vegetal*. Universidade Federal de Viçosa, 2ed, 179-203

David R., Carde J. P. (1964). Histo chimie-coloration differentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du pin maritime au moyen du reactif NADI. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences*, **258(4)**, 1338.

de Oliveira e Silva M. A., Romero R. (2008). Melastomataceae das serras do município de Delfinópolis, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia*, 609-647. dx.doi.org/10.1590/2175-7860200859401

Dellinger A. S., Penneys D. S., Staedler Y. M., Fragner L., Weckwerth W., Scheonenberger J. (2014). A specialized bird pollination system with a bellows mechanism for pollen transfer and staminal food body rewards. *Current Biology* **24**: 1615–1619. doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.056

Dellinger A. S., Chartier M., Fernández-Fernández D., Penneys D. S., Alvear M., Almeda F., Michelangeli F. A., Staedler Y., Armbruster W. S., Schönenberger J. (2019). Beyond buzz-pollination—departures from an adaptive plateau lead to new pollination syndromes. *New Phytologist*, **221(2)**, 1136-1149. doi.org/10.1111/nph.15468

Duke S. O. (1994). Glandular trichomes-a focal point of chemical and structural interactions. *International Journal of Plant Sciences*, **155(6)**, 617-620. doi.org/10.1086/297200

Fenster C. B., Armbruster W. S., Wilson P., Dudash M. R., Thomson J. D. (2004). Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **35**, 375-403. doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347

Fracasso C. M., Sazima M. (2004). Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Revista Brasileira de Botânica* **27(4)**: 797-804.

Fracasso, C. M. (2008). Biologia da polinização e reprodução de espécies de Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra (MG). Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)- Universidade Federal de Campinas, Instituto de Biologia.

Frankie G. W., Vinson S. B., Newstrom L. E., Barthell J. F. (1988). Nest site and habitat preferences of *Centris* bees in the Costa Rican dry forest. *Biotropica*, 301-310.

Gaglianone M. C. (2003). Abelhas da tribo Centridini na Estação Ecológica de Jataí (Luís Antonio, SP): Composição de espécies e interações com flores de Malpighiaceae. *Apoidea Neotropica: Homenagem aos*, **90**, 279-284.

Gaglianone M. C., Aguiar A. J. C., Vivallo F., Alves-dos-Santos I. (2011). Checklist das abelhas coletooras de óleos do Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, **11(1a)**.

Gerrits P. O. (1991). *The application of glycol methacrylate in histotechnology: some fundamental principles*. Department of Anatomy and Embryology, State University Groningen, Netherlands

Gottberger G. (1986). Some pollination strategies in neotropical savannas and forests. *Plant Systematics and Evolution*, **152(1-2)**, 29-45.

Guimarães P. J. F., Ranga N. T., Martins A. B. (1999). Morfologia dos tricomas em *Tibouchina* sect. *Pleroma* (D. Don) cogn. (Melastomataceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **42(4)**. dx.doi.org/10.1590/S1516-89131999000400015

Hargreaves A. L., Harder L. D., Johnson S. D. (2009). Consumptive emasculation: The ecological and evolutionary consequences of pollen theft. *Biological Reviews*, **84**, 259–276. doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00074.x

Jensen W. A. (1962). *Botanical histochemistry: principles and practice* (No. QK 861. J46).

Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc.; London.

Lillie R. D. (1965). *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*. Blakiston, New York.

Machado I. C., Vogel S., Lopes A. V. (2002). Pollination of *Angelonia cornigera* Hook. (Scrophulariaceae) by Long-Legged, Oil-Collecting Bees in NE Brazil. *Plant Biology*, **4(3)**, 352-359. Martins A. B. (2009). Melastomataceae. In: Wanderley M.G.L., Shepherd G.J., Melhem T.S., Giulietti A.M., Martins S.E. eds. *Flora fanerogâmica do estado de São Paulo*, **6**, 1-167. doi: 10.1055/s-2002-32325

Melo G. A., Gaglianone M. C. (2005). Females of *Tapinotaspidoides*, a genus in the oil-collecting bee tribe Tapinotaspidini, collect secretions from non-floral trichomes (Hymenoptera, Apidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, **49(1)**, 167-168. dx.doi.org/10.1590/S0085-56262005000100022

Mesquita-Neto J. N., Blüthgen N., Schlindwein C. (2018). Flowers with poricidal anthers and their complex interaction networks—Disentangling legitimate pollinators and illegitimate visitors. *Functional Ecology*, **32(10)**, 2321-2332. doi.org/10.1111/1365-2435.13204

Nicolson S. W., Thornburg R. W. (2007). Nectar chemistry. In: Nicolson S. W., Nepi M., Pacini E. (eds.). *Nectaries and nectar*, Springer, Dordrecht, 215-264.

Nunes C. E., Gerlach G., Bandeira K. D., Gobbo-Neto L., Pansarin E. R., Sazima M. (2017). Two orchids, one scent? Floral volatiles of *Catasetum cernuum* and *Gongora bufonia* suggest convergent evolution to a unique pollination niche. *Flora*, **232**, 207-216. doi.org/10.1016/j.flora.2016.11.016

O'brien T. P., Feder N., McCully M. E. (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, **59(2)**, 368-373.

Oliveira F. S. (2016). Ecologia da polinização e análise da composição química do óleo floral de duas espécies de Mouriri (Melastomataceae) e sua importância na atração dos visitantes florais. Tese

(Doutorado em Biodiversidade e Conservação) – Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, Universidade Federal do Maranhão, 136.

Oliveira R. C., Oi C. A., do Nascimento M. M. C., Vollet-Neto A., Alves D. A., Campos M. C., Nascimento F., Wenseleers, T. (2015). The origin and evolution of queen and fertility signals in Corbiculate bees. *BMC evolutionary biology*, **15(1)**, 254. doi.org/10.1186/s12862-015-0509-8

Ollerton J., Winfree R., Tarrant S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, **120(3)**, 321-326.doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x

Pearse A. G. E. (1980). The chemistry and practice of fixation. *Histochemistry, Theoretical and Applied, Preparative and Optical Technology*, **1**, 97-158.Possobom C. C. F., Machado S. R. (2017). Elaiophores: their taxonomic distribution, morphology and functions. *Acta Botanica Brasilica*, **31(3)**, 503-524.

Rêgo M. M. C., Albuquerque P. M. C. (1989). Comportamento das abelhas visitantes de murici, *Byrsonima crassifolia*(L.) Kunth, Malpighiaceae. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Nova série. Zoologia*. **5(2)**,179-193.

Renner S. S. (1983). The widespread occurrence of anther destruction by *Trigona* bees in Melastomataceae. *Biotropica*, **15**, 251–256. doi: 10.2307/2387649

Renner S. S. (1989). A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 496-518. doi: 10.2307/2399497

Renner S. S., Schaefer H. (2010). The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **365(1539)**, 423-435. doi.org/10.1098/rstb.2009.0229

Sazima M., Sazima I. (1989). Oil-gathering bees visit flowers of eglandular morphs of the Oilproducing Malpighiaceae. *Botanica Acta*, **102(1)**, 106–111. doi.org/10.1111/j.1438-8677.1989.tb00073.x

Serna, D., Martínez, J. (2015). Phenolics and polyphenolics from Melastomataceae species. *Molecules*, **20(10)**, 17818-17847. doi:10.3390/molecules201017818

Sigrist M. R., Sazima M. (2004). Pollination and reproductive biology of twelve species of neotropical Malpighiaceae: stigma morphology and its implications for the breeding system. *Annals*

of
94(1), 33-41. doi.org/10.1093/aob/mch108

botany,

Simpson B. B., Neff J. L., Seigler D. (1977). *Krameria*, free fatty acids and oil-collecting bees. *Nature*, **267**(5607), 150-151.

Simpson B. B., Neff J. L. (1981). Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 301-322. doi: 10.2307/2398800

Simpson B. B., Neff J. L. (1983). Evolution and diversity of floral rewards. In: Jones C. E., Little R. J. (eds.). *Handbook of experimental pollination biology*, New York: Scientific and Academic Editions, 142-159.

Simpson B. B. (1989). Pollination biology and taxonomy of *Dinemandra* and *Dinemagonum* (Malpighiaceae). *Systematic Botany* **14**: 408-426. doi: 10.2307/2418932

Solís-Montero L., Vergara C. H., Vallejo-Marín M. (2015). High incidence of pollen theft in natural populations of a buzz-pollinated plant. *Arthropod-Plant Interactions*, **9**, 599–611. doi: 10.1007/s11829-015-9397-5

Solomons T. G., Fryhle C. B. (1999). *Química orgânica*. (No. QD251. 2. S64 1979). Limusa.

Teixeira L. A. G., Machado I. C. (2000). Sistema de polinização e reprodução de *Byrsonima sericea* DC. (Malpighiaceae). *Acta Botanica Brasilica* **14**: 347-357.

Vinson S. B., Frankie G. W., Williams H. J. (1996). Chemical ecology of bees of the genus *Centris* (Hymenoptera: Apidae). *Florida Entomologist*, 109-129. doi: 10.2307/3495809

Vinson S. B., Williams H. J., Frankie G. W., Shrum G. (1997). Floral lipid chemistry of *Byrsonima crassifolia* (Malpighaceae) and a use of floral lipids by *Centris* bees (Hymenoptera: Apidae). *Biotropica*, **29**(1), 76-83. doi.org/10.1111/j.1744-7429.1997.tb00008.x

Vinson S. B., Frankie G. W., Williams H. J. (2006). Nest liquid resources of several cavity nesting bees in the genus *Centris* and the identification of a preservative, levulinic acid. *Journal of chemical ecology*, **32**(9), 2013-2021.

Vogel S. (1974). Ölblumen und ölsammelnde Bienen. *Tropische und subtropische Pflanzenwelt*, **7**, 1-267.

Vogel S. (1988). The oil-bee oil-flower relationships-parallelism and other aspects of their evolution in space and time. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **26**(5), 341-362. doi.org/10.1111/j.1439-0469.1988.tb00322.x

Westerkamp C. (1996). Pollen in bee-flower relations - Some considerations on melittophily. *Botanica Acta*, **109**(4), 325-332. doi.org/10.1111/j.1438-8677.1996.tb00580.x

Willmer P. (2011). *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press.

Zeeman S. C., Kossmann J., Smith A. M. (2010). Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual review of plant biology*, **61**, 209-234.
doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112301

TABELAS

Tabela 1 – Compostos majoritários e em ordem de abundância presentes em extrato da solução obtida com a imersão dos filetes de *Macairea radula* em diclorometano, onde: AR- abundância relativa (%), TR- tempo de retenção, PM- peso molecular, FM- fórmula molecular e FQ – função química.

Composto	AR	TR	PM	FM	FQ
Ácido esteárico	12,36	36,24	284,48	C18H36O2	Ácido graxo
Octadecano	11,16	40,82	254,5	C18H38	Alcano
Nonadecano	9,99	44,61	268,53	C19H40	Alcano
Heptadecano	9,94	36,67	240,48	C17H36	Alcano
Eicosano	7,45	48,15	282,56	C20H42	Alcano
Hexadecano	6,15	32,25	226,45	C16H34	Alcano
Heneicosano	4,82	51,46	296,58	C21H45	Alcano
1-Hexadecanol	4,34	29,39	242,45	C16H34O	Álcool
2-Metiloctadecano	3,82	41,97	268,53	C19H40	Alcano
Tetradecanoato de metila	3,8	35,59	242,403	C15H30O2	Ácido graxo
2-Tetradeciloxietanol	3,09	45,68	258,45	C16H34O2	Álcool
Ácido palmítico	2,83	31,88	256,43	C16H32O2	Ácido graxo
Docosano	2,66	54,59	310,61	C22H46	Alcano
1-Heptadecanol	2,58	34,23	256,47	C17H36O	Álcool
8-Heptilpentadecano	2,35	53,11	310,6	C22H46	Alcano
(E)-3-Octadeceno	2,06	29,53	252,486	C18H36	Alceno
Tricosano	1,97	58,43	324,64	C23H48	Alcano
Esqualeno	1,92	48,61	410,73	C30H50	Isoprenoide
n-Tetratetracontano	1,23	44,58	619,2	C44H90	Alcano

Tabela 2 – Relação de visitantes florais de *Macairea radula* e suas respectivas caracterizações. R: recompensa coletada, MC: modo de coleta, C: comportamento, P: pólen, O: óleo, VF: vibradoras de flores, VA: vibradoras de anteras, NV: não-vibradoras, V: vibração, R: raspagem.

Visitantes	R	MC	C	Registros para coleta de óleo
Apidae				
Centridini				Vogel 1974; 1988, Simpson et al. 1977, , Rabêlo 1985, Gottsberg 1986, Buchmann 1987, Simpson & Neff, 1987, Sazima & Sazima 1989, Simpson 1989, Alburquerque & Mendonça 1996, Machado et al. 2002, Gaglianone 2003, Teixeira & Machado 2000, Aguiar et al 2003, Bezerra et al 2009, Gaglianone et al. 2011, Carneiro et al. 2015
<i>Centris (Centris) aenea</i> Lepeletier 1841	P/O	VF	V	
Meliponini				Vogel 1974, Buchmann & Buchmann 1981, Buchmann 1987, Rego & Albuquerque 1989
<i>Trigona</i> sp	P/O	NV	R	
Halictidae				
Augochlorini				sem registros
<i>Augochloropsis</i> sp	P	VA	V	

FIGURAS

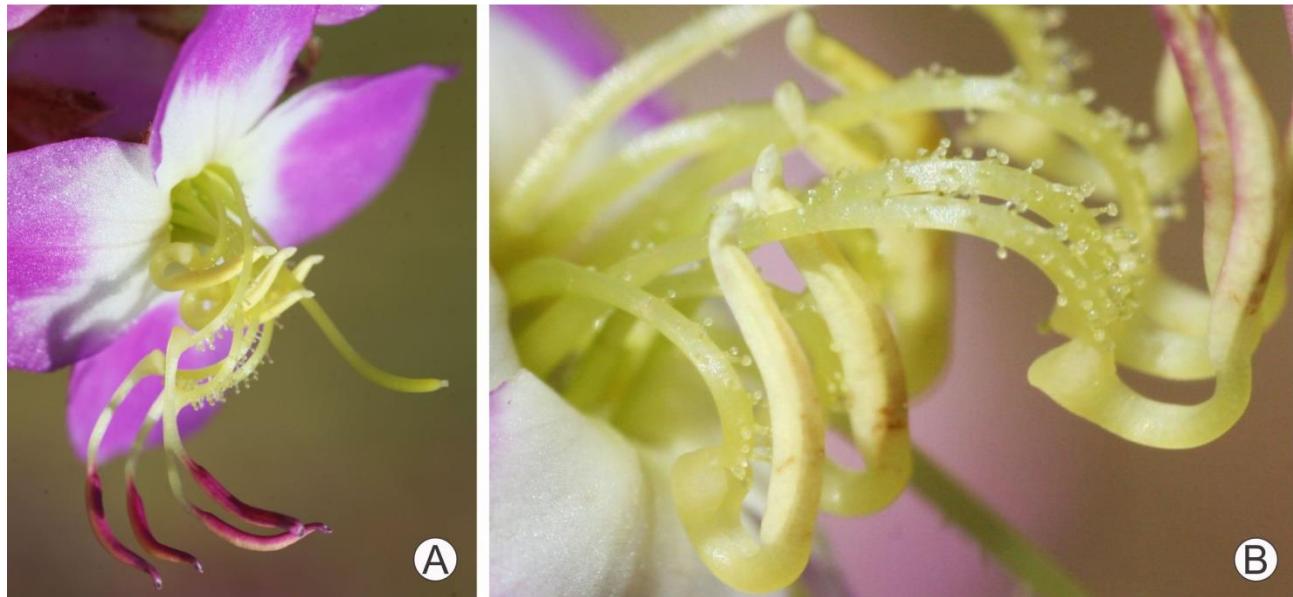


Fig 1 – Flor de *Macairea radula*: (A) estames dimorfos, sendo quatro menores distribuídos em ciclo antepétalo e quatro maiores em ciclo antessépalo com glândulas estaminais distribuídas na porção ventral dos filetes; (B) Detalhe das glândulas estaminais.

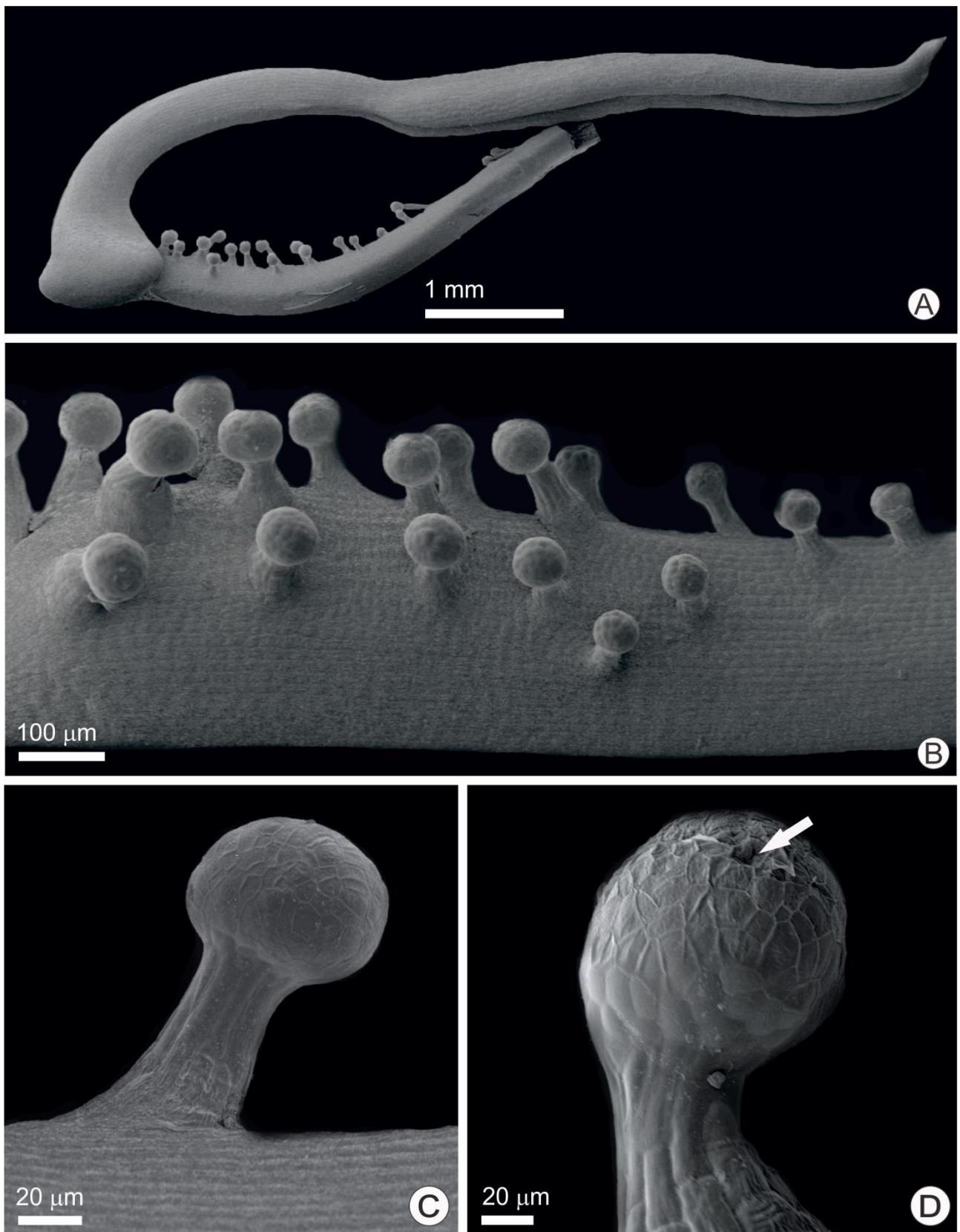


Fig 2 – Microscopia eletrônica de varredura realizada com estames de *Macairea radula* (A) e (B) evidenciando uma grande densidade de glândulas estaminais na face ventral do filete, (C) superfície intacta da cabeça secretora dessas glândulas em estágio de botão e (D) cutícula rompida da cabeça secretora dessas glândulas em flor visitada.

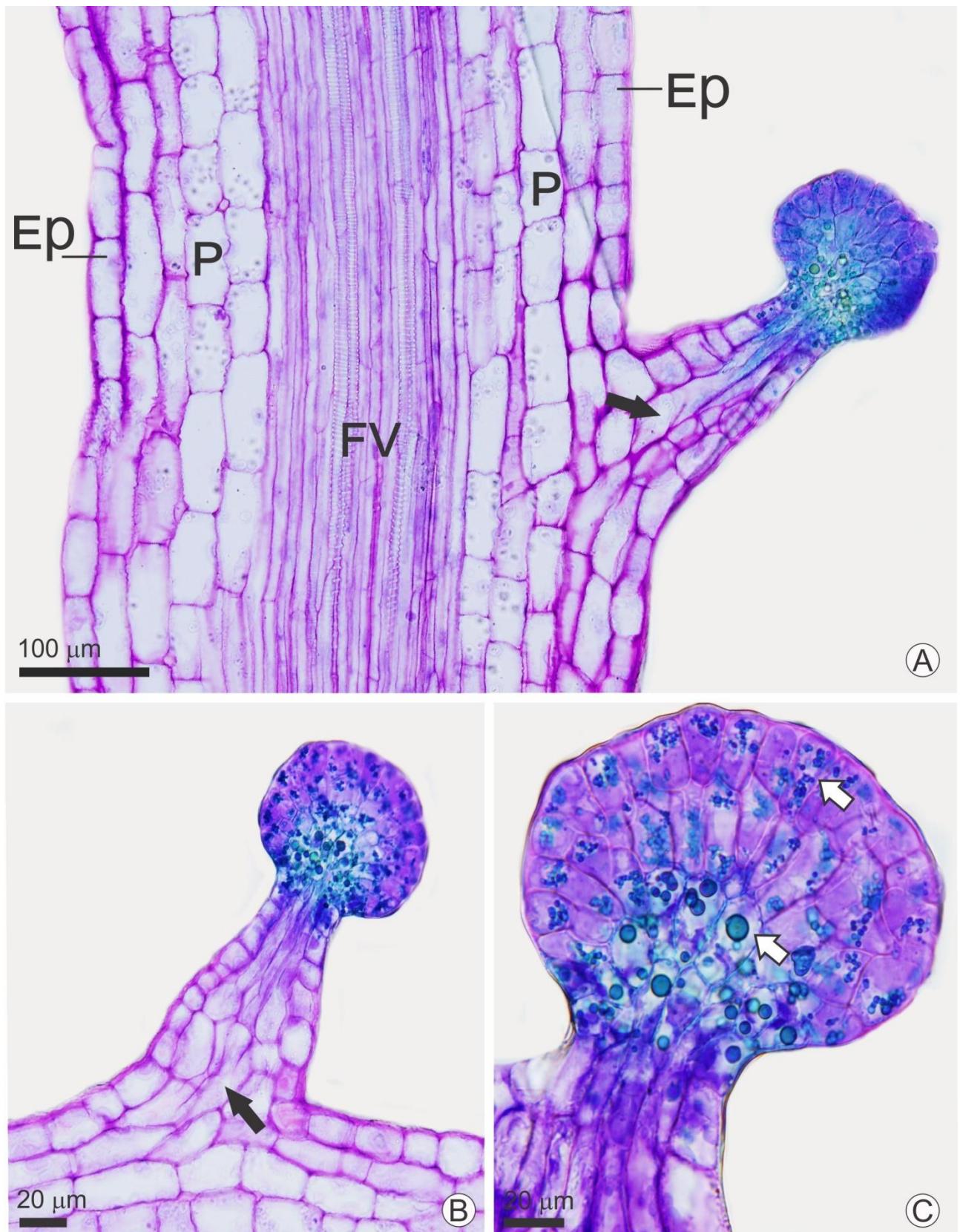


Fig 3 – Seções anatômicas de filete de *Macairea radula* coradas em Toluidina evidenciando a estrutura de glândula estaminal. P: parênquima, FV: feixes vasculares, EP: estrato epidérmico, setas pretas: projeção de tecido parenquimático para o pedúnculo da glândula e setas brancas: gotículas de óleo.

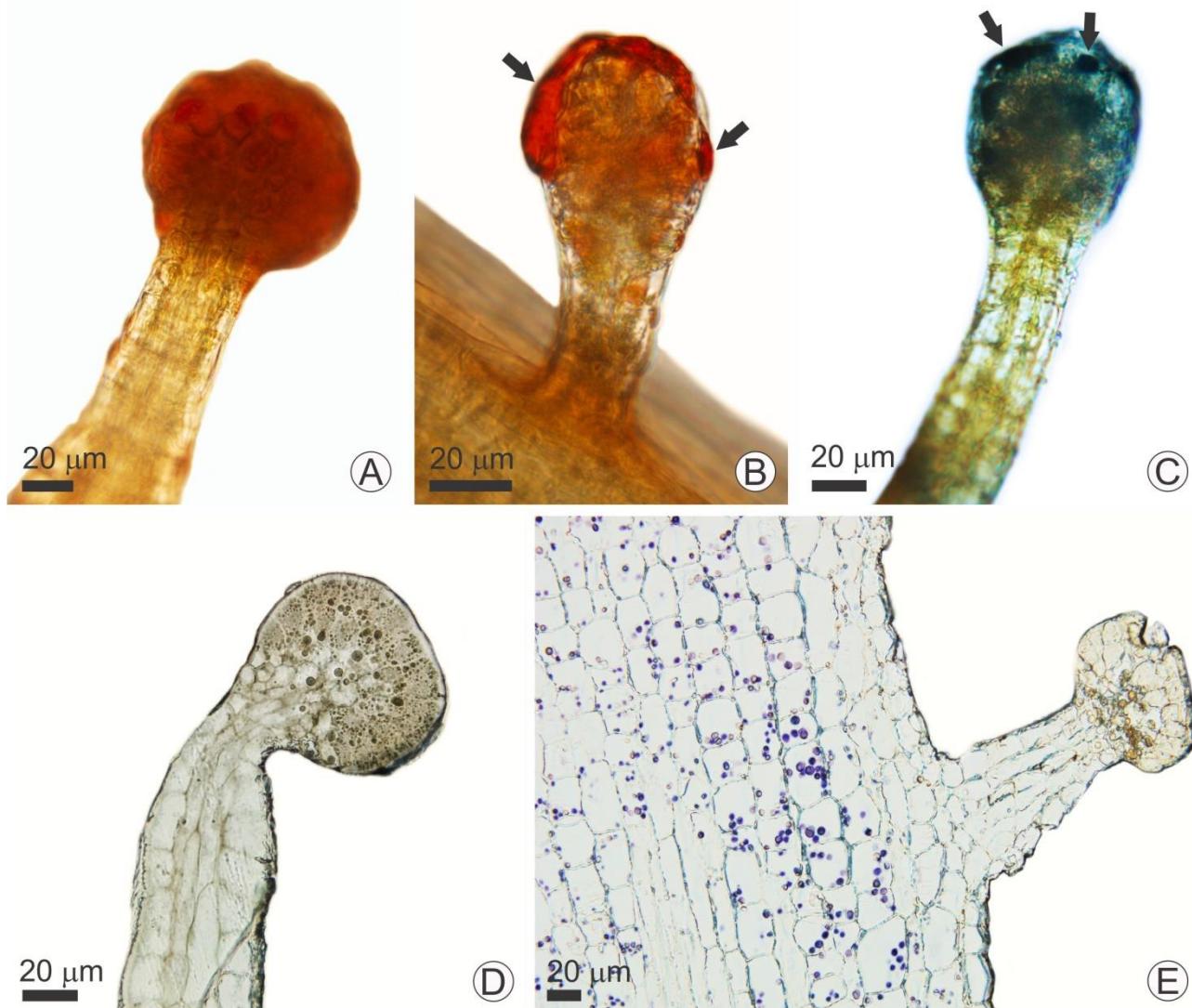


Fig 4 – Resultados positivos com testes histoquímicos em glândulas estaminais de *Macairea radula*. Setas indicando compostos corados: A: Vermelho de Sudão IV corando de vermelho secreções lipídicas, B: secreção lipídica corada por Sudan IV recobrindo superfície da glândula, C: Negro de Sudão B corando de preto secreções lipídicas, D: Tricloreto Férrego corando de marrom compostos fenólicos em gotículas de óleo, E: Lugol corando de roxo os grânulos de amido

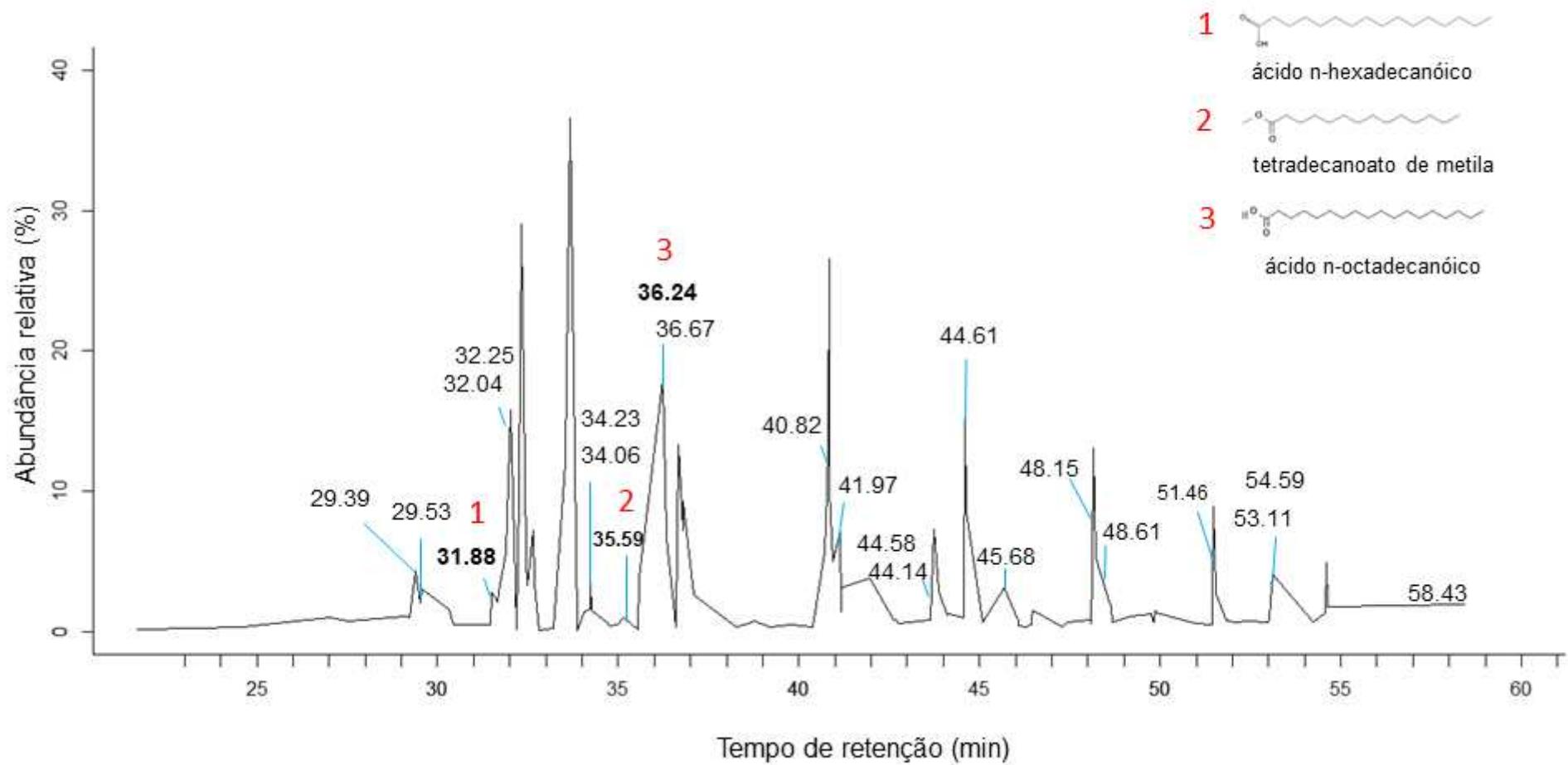


Fig 6 – Perfil cromatográfico de extratos das glândulas estaminais de *Macairea radula* com tempos de retenção (RT) dos compostos mais abundantes evidenciando em 1-3 os ácidos graxos e suas estruturas.

MATERIAL SUPLEMENTAR

VIDEO- Registro de visita de abelha *Centris* sp em flores de *Macairea radula*. Durante a visita, as abelhas agarram-se às estruturas reprodutivas da flor e realizam a vibração da musculatura torácica, que dura alguns segundos. Durante este comportamento a fricção das glândulas de óleo deve ocorrer levando a coleta passiva deste recurso.

[Link](#)

CAPÍTULO II

Além da heteranteria: especialização de gênero e dimorfismo estilar como estratégias para resolver o dilema de pólen?

Larissa Chagas de Oliveira^{a,*}, Ana Paula de Souza Caetano^b, Renata Telles Trevizan de Souza^a, Vinícius Lourenço Garcia de Brito^c

^a Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, CEP 38400-902, Uberlândia, MG, Brasil

^b Departamento de Botânica e Ecologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso, CEP 78068-600, Cuiabá, MT, Brasil

^c Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, CEP 38400-902, Uberlândia, MG, Brasil

* Autor correspondente

Endereço de e-mail: oliveiralarissach@gmail.com (L.C. Oliveira)

ABSTRACT

The pollen dilemma faced by pollen rewarding flowers establish scenarios in which several reproductive strategies are favored. In the specific case of *Macairea radula*, the solution of such dilemma is believed to affect the mechanical-fit between flowers and pollinators as well as sexual performance traits. This study was aimed to quantify and describe these traits to detect the current phenotypic selection mediated by bee pollinators. The allometric relationship between size and shape found for *M. radula* stamens and styles seem to contribute to the joint selection of these traits and to deviations of the classic morphological patterns of heterantry and heterostily previously proposed for these plants. Variation in reproductive efforts between female and male components are also checked and lead to distinct functional genders expression in individuals, even though they are described as hermaphrodites. The studied populations showed quadratic and correlational selection gradients by male component of reproductive success, which suggests specific patterns of sexual selection mediated by their pollinators through which evolutionary routes of functional dioecy, stylar dimorphism and heterantry are possibly favoured.

Key words: allometry, buzz pollination, floral integration, heterostily, pollen flowers. phenotypic selection

RESUMO

O dilema de pólen em flores que oferecem apenas pólen como recurso aos polinizadores gera cenários que favorecem diferentes estratégias reprodutivas. No caso específico de *Macairea radula*, a solução para este dilema de manifesta através de diferentes atributos florais de ajuste morfológico ao polinizador e da performance sexual de suas flores. O objetivo deste estudo foi quantificar e descrever estes atributos e relacioná-los com o fitness relativo individual para detectar a seleção fenotípica sobre estes. As relações alométricas entre tamanho e forma encontradas para os estames e estiletes das flores de *M. radula* parecem contribuir para a seleção conjunta desses atributos e configurar desvios de padrões morfológicos clássicos propostos para a heteranteria e a heterostilia descritos previamente para essas plantas. Variação nos esforços reprodutivos entre as funções feminina e masculina também são verificadas e levam a expressão de distintos gêneros funcionais nos indivíduos, mesmo que estes sejam morfologicamente descritos como hermafroditas. As populações deste estudo apresentaram gradientes de seleção quadrática e correlacional através do componente masculino de sucesso reprodutivo, indicando padrões de seleção sexual-específica mediada por polinizadores, pelos quais rotas evolutivas de dioicia funcional, dimorfismo estilar e heteranteria são possivelmente favorecidas.

Palavras-chave: alometria, flores de pólen, heterostilia, integração floral, polinização por vibração, seleção fenotípica

Abreviações: ep, estame antepétalo; es, estame antessépalo

1. INTRODUÇÃO

Desde Darwin, a diversificação das angiospermas tem sido comumente associada à interação de suas flores com os polinizadores e sua consequente adaptação (van der Niet & Johnson, 2012). A grande variedade de sistemas florais e sexuais é um reflexo dessa adaptação. Nas plantas hermafroditas, estes sistemas envolvem variações morfológicas nos órgãos reprodutivos em razão do acoplamento flor-polinizador, como é o caso da heterostilia e da heteranteria (Barrett, 2002, 2013; Cardoso et al., 2018). Da mesma forma, variações no esforço reprodutivo das funções feminina e masculina podem configurar diferentes gêneros funcionais nestas plantas em um contexto populacional e dependente dos polinizadores (Lloyd, 1980; Bawa & Beach, 1981; Campbell, 1989; Pannell & Verdú, 2006). Assim, tanto a morfologia floral quanto o gênero podem estar sob forte pressão de seleção por estarem intimamente relacionados ao sucesso reprodutivo da planta, sendo que os polinizadores são os principais mediadores desse processo (Fenster et al., 2004; van der Niet & Johnson, 2012; Barrett, 2013).

A sexualidade de uma planta é comumente descrita pela ocorrência e distribuição dos órgãos florais reprodutivos (*i.e.* estames e pistilos) no tempo e no espaço e indivíduos ou flores consideradas hermafroditas ou bissexuais, respectivamente, expressam ambas as funções (Cardoso et al., 2018). Entretanto, a produção de pólen e óvulos nestas plantas, considerando seu contexto dentro de uma população, não significa necessariamente uma contribuição potencial igual de gametas masculinos e femininos para a próxima geração. Se os gametófitos são tomados como unidades discretas, a planta pode então apresentar, funcionalmente, gêneros dados em proporções relativas de masculinidade e feminilidade, que diferem do seu sexo morfológico “aparente” (Lloyd, 1980; Bawa & Beach, 1981; Lloyd & Bawa, 1984; Barrett, 2002; Harder et al., 2016). Enquanto a expressão do gênero pode ser caracterizada como um atributo de performance sexual, envolvendo a contribuição dos gametas no processo reprodutivo, os atributos de ajuste mecânico-morfológico como forma, tamanho e posição das estruturas reprodutivas estão envolvidos com as etapas de transferência e encontro desses gametófitos em si (Armbruster, 2014; Armbruster et al., 2014a).

A variação destes atributos pode ser quantificada no contexto populacional e isso permite a caracterização de diferentes estratégias e adaptações reprodutivas nas plantas (Klingenberg, 2009, 2016; Chartier et al., 2017; Dellinguer et al., 2019). Por exemplo, a ocorrência de mais de um tipo de estame em uma mesma flor, devido principalmente à diferenças na forma e tamanho, caracteriza a heteranteria. Este sistema favorece a reprodução da planta frente ao custo do consumo de pólen pelas abelhas em flores de pólen (Vallejo-Marin et al., 2009, 2010; Velloso et al., 2018). Assim, acredita-se que essa diferença morfológica dos estames seja uma solução para o conflito evolutivo gerado pela dupla funcionalidade dos grãos de pólen nessas flores (i.e. alimentação das abelhas e reprodução da planta) conhecido como “dilema de pólen” (Luo et al., 2008; Vallejo-Marin et al., 2009, 2010; Lunau et al., 2015). Por outro lado, na heterostilia, as variações morfológicas se estendem também para o nível da altura dos estiletes, o que garante a reciprocidade destas estruturas e leva a transferência acurada de pólen entre os diferentes morfos, favorecendo a reprodução cruzada pela deposição e remoção deste recurso em partes específicas do corpo do polinizador (Barrett et al., 2000;; Armbruster et al., 2004; Cardoso et al., 2018).

Se as mudanças nos atributos de ajuste morfológico em plantas com diferentes gêneros funcionais alteram a eficácia da doação e recepção de pólen durante a interação com seus polinizadores, diferentes gradientes de seleção nos componentes feminino e masculino do sucesso reprodutivo podem ocorrer, caracterizando uma seleção sexual (Campbell, 1989). Assim como nas variações de seleção de atributos atrativos, este cenário pode ser elucidado por diferentes hipóteses, como as de “equilíbrio de gênero”, “função masculina” e “contexto-dependente” (Asman & Morgan, 2003). De acordo com a primeira, a seleção de atributos florais tende a ser equivalente entre os componentes de sucesso reprodutivo feminino e masculino. Porém, na segunda hipótese, a seleção mediada por polinizadores é mais intensa no componente masculino do que no feminino, uma vez que o sucesso reprodutivo masculino é limitado pela efetividade dos eventos de polinização, enquanto que o feminino é limitado pelos recursos físicos (Burd & Callahan, 2000). Nesse caso, a detecção de gradientes de seleção de atributos florais é mais difícil uma vez que existem limitações metodológicas para se quantificar o sucesso masculino em plantas (Moore & Pannell 2011). Por fim, a hipótese contexto-dependente prediz que o sucesso reprodutivo feminino e masculino depende do polinizador e isto

pode gerar padrões seletivos tanto iguais quanto diferentes entre os componentes da aptidão (Wilson et al., 1994; Ashman & Diefenderfer, 2001).

A evolução dos atributos de performance sexual e ajuste morfológico comumente levam a solução de conflitos evolutivos e a otimização do sucesso reprodutivo das plantas no contexto da interação das flores com potenciais polinizadores (Cardoso et al., 2018). Assim, diferentes padrões de seleção destes atributos podem canalizar rotas evolutivas para os sistemas florais que diferem dos modelos clássicos propostos. A perda recorrente de padrões morfológicos, levando a conhecida instabilidade evolutiva tanto da heterostilia quanto da heteranteria, tem mostrado isso (Barrett & Hodgins, 2006; Hodgins & Barrett, 2008, Ferrero et al., 2009, 2011; Vallejo-Marín et al., 2015; Melo et al., dados não publicados). No contexto da dinâmica de polinização destas plantas, o polinizador promove destinos diferentes do pólen removido entre os distintos estames e de sua recepção nos estiletes de tamanhos diferentes, exercendo assim diferentes pressões seletivas sobre esses atributos,. Esse contexto pode favorecer a alocação do esforço reprodutivo em uma função sexual em detrimento da outra entre os indivíduos, levando à especialização funcional de gênero e à uma quebra de padrão também no sistema sexual destas plantas (i.e. hermafroditismo) (Lloyd, 1979; Bawa & Beach, 1981; Casper, 1992; Barrett, 2002; Rosas & Domínguez, 2008; Barrett, 2013).

Na família Melastomataceae, a heterostilia e especialização funcional de gênero são contextos ainda pouco explorados, mas a heteranteria é comumente verificada (Renner, 1989; Vallejo-Marín et al., 2010; Melo et al., dados não publicados). Juntamente à presença de anteras poricidas e a predominância na oferta de pólen como único recurso, estes atributos apontam a necessidade da interação de seus representantes com um grupo específico de polinizadores capazes de realizar polinização vibrátil (Buchmann, 1983; De Luca & Vallejo-Marín, 2013; Cardinal et al., 2018). Assim, esse sistema especializado de polinização na família indica que os polinizadores atuam como importantes agentes seletivos dos atributos florais (Fenster et al., 2004; van der Niet & Johnson, 2012). A espécie deste estudo, *Macairea radula* (Bonpl.) DC. (Meslastomataceae), apresenta heteranteria e foi previamente caracterizada como heterostílica, mas com certo relaxamento dos padrões clássicos esperados (Oliveira et al., dados não publicados). Ainda, a variação fenotípica observada nesta espécie atrelada ao ajuste morfológico com polinizadores pode resultar em uma especialização funcional

de gênero dos indivíduos, caracterizando possíveis mudanças em seu sistema sexual aparente, o hermafroditismo. Assim, acreditamos que esse cenário morfológico-sexual seja dado em resposta às diferentes pressões seletivas mediadas pelos polinizadores e que possivelmente isso configure diferentes padrões de seleção através dos componentes feminino e masculino, suportando a hipótese contexto dependente. Nesta perspectiva, o objetivo do estudo foi 1) quantificar os padrões morfológicos das estruturas reprodutivas nos indivíduos em duas populações desta espécie; 2) quantificar e descrever o gênero funcional destes indivíduos no contexto populacional e; 3) avaliar, através dos componentes feminino e masculino de sucesso reprodutivo, a seleção fenotípica mediada pelas abelhas polinizadoras tanto no gênero funcional quanto na forma e tamanho das estruturas reprodutivas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Sistema de estudo

Macairea radula é uma planta arbustiva com flores organizadas em tirso multifloros e caracterizadas pela oferta de pólen como principal recurso. A ocorrência de oito estames alternadamente dimorfos distribuídos entre os ciclos antepétalo (estames menores) e antessépalo (estames geralmente maiores), e anteras com deiscência poricida, caracterizam a heteranteria e o sistema da polinização por vibração (de Oliveira e Silvia & Romero, 2008; Bacci et al., 2016). O estilete apresenta aspecto ereto, curvado ou sigmóide e, dada a variação no comprimento deste, juntamente aos estames, três tipos florais podem ser encontrados: S (estilete curto) - indivíduos cujo comprimento do estilete é menor que os dois conjuntos de estames, L (estilete longo) indivíduos com comprimento do estilete maior que os dois conjuntos de estames e M (estilete médio) indivíduos de comprimento do estilete intermediário aos dois conjuntos de estames. Os tipos florais não apresentam diferenças no sucesso reprodutivo, o que, em adição às características morfológicas desses órgãos, permitiria tipificar uma heterostilia para a espécie. Porém, desvios nos padrões esperados para este sistema floral são verificados, como a anisopletia, a auto-compatibilidade e a baixa reciprocidade, dada principalmente pela sobreposição no comprimento dos estiletes das flores de indivíduos M e L (Oliveira et al., dados não publicados). Funcionalmente, os estames são divididos em dois tipos: I- pequenos e voltados para alimentação das

abelhas (ciclo antepétalo e às vezes antessépalo) e II- grandes e voltados para a polinização (ciclo antessépalo). Essas duas categorias ocorrem nos tipos florais S e M, mas indivíduos L apresentam apenas estames de alimentação, com estames do ciclo antessépalo apresentando distribuição de comprimento similar à dos estames do ciclo antepétalo (Oliveira et al., dados não publicados).

Nas populações do estudo, a espécie é visitada principalmente por abelhas vibradoras dos gêneros *Augochloropsis* sp. e *Centris* sp., mas somente estas últimas são caracterizadas como polinizadores efetivos dado o ajuste morfológico entre seu corpo e os órgãos reprodutivos das flores. Quando visitam as flores, as abelhas abraçam todas as estruturas reprodutivas, que por sua vez tocam em diferentes áreas de seu corpo. Estes polinizadores apresentam comportamento característico de limpeza na região ventral do abdômen, o que potencialmente gera uma partição assimétrica dos grãos de pólen em seu corpo (Koch et al., 2017). A ocorrência dos dois tipos de estames nos indivíduos S e M, permite que atuem principalmente como doadores de pólen, uma vez que as abelhas acessam somente metade do recurso para alimentação (*i.e.* advindo do ciclo antepétalo), enquanto o restante do pólen (*i.e.* advindo do ciclo antessépalo) pode ser destinado a reprodução das flores por caírem em áreas seguras do corpo das abelhas, onde os estiletes de outro tipo floral tocam. Os indivíduos L atuam melhor na recepção deste pólen, já que são seus estiletes que tocam nestas áreas seguras, mas todo seu grão de pólen (*i.e.* advindo dos ciclos antepétalo e antessépalo) é alocado no ventre das abelhas e pode ser utilizado como recurso. Embora exista uma competição com as abelhas, parte desse pólen pode ser destinada também à função reprodutiva através da polinização residual dos estiletes S que possivelmente tocam regiões do corpo destes animais onde ainda restam grãos de pólen. Assim, uma especialização funcional entre as funções feminina e masculina parece ocorrer nos indivíduos L e S e M respectivamente (Oliveira et al., dados não publicados).

2.2. Área de estudo e amostragem

As coletas foram feitas em duas populações entre agosto e novembro de 2017 e 2018 em áreas de Cerrado sensu stricto com trechos vereda: 1- Fazenda Águas de Santo Antônio ($20^{\circ}25'48.7"S$ $46^{\circ}40'00.2"W$ - Delfinópolis, Minas Gerais) e 2- Fazenda

Ourinhos ($19^{\circ}02'49.19''S$ $48^{\circ}21'00.48''O$ - Uberlândia, Minas Gerais). Em cada população foram selecionados 39 e 37 indivíduos respectivamente ($n=74$).

2.3. Análises descritivas - atributos de ajuste mecânico e performance sexual

2.3.1. Morfologia dos elementos reprodutivos

Realizamos medidas de tamanho e forma a partir de fotografias digitais das estruturas reprodutivas sobre uma placa de vidro com papel milimetrado. Para cada indivíduo, foram utilizadas três flores, cujos estames e estilete foram organizados na placa seguindo a mesma ordem (estame antessépalo, estame antepétalo e estilete) e orientação. As estruturas de cada flor foram dispostas em três fileiras da placa e uma imagem por indivíduo foi tomada. A lente da câmera foi posicionada paralelamente à placa e a distância focal foi padronizada em 50 milímetros para evitar distorções na forma devido às características da lente. As imagens foram organizadas no programa tpsUtil e os dados morfométricos foram tomados pela digitalização de coordenadas cartesianas (marcos e semi marcos anatômicos) no programa tpsDig. Os marcos foram selecionados quanto à homologia dos pontos de coordenadas, representando adequadamente a morfologia comumente encontrada em diferentes indivíduos. Nós definimos 12 marcos anatômicos divididos entre cada estrutura reprodutiva. Os marcos 1-8 referem-se ao poro da antera, inserção da antera ao conectivo, inserção do conectivo ao filete e inserção do filete dos estames antessépalo e antepétalo no hipanto. Os marcos 9 e 10 referem-se à superfície estigmática e inserção do estilete no ápice do ovário. Os semi marcos foram digitalizados em pontos igualmente espaçados entre cada marco dos estames (totalizando 9) e do estilete (totalizando 8) (Fig. S.1). As variáveis de forma foram geradas no programa R (pacote geomorf) através de uma Análise Generalizada de Procrustes (GPA) que fez a sobreposição dos marcos através dos movimentos de translação e rotação, removendo efeitos de posição e orientação através do método de quadrados mínimos (Adams et al., 2004). A partir dessa análise, a forma de cada estrutura pode ser representada por um ponto no espaço de forma não-Euclidianamente gerado pela GPA. Valores de deformações relativas (RW) foram obtidos através da interpolação das coordenadas das estruturas e usados como medidas de variação na forma de cada estrutura em cada indivíduo. O tamanho do centroide foi usado como

uma medida adimensional do tamanho dessas estruturas. (Bookstein, 1991; Klingenberg, 2004, 2016).

$$\sqrt{\sum d^2 \cdot x_i \cdot G}$$

onde, $d_{xi}G$ é a distância do marco anatômico i ao centroide dos pontos.

As medidas de heteranteria foram tomadas pela diferença de tamanho do centroide dos estames antessépalos e antepétalos. A distribuição de todas essas métricas foram analisadas graficamente. Valores de forma (RW), heteranteria e do tamanho do centroide dos estiletes foram comparados entre cada população através de teste t de Student para verificar diferenças na distribuição destas medidas entre as populações, e também correlacionados para verificar a presença de alometria através do coeficiente de Pearson.

2.3.2. Esforço reprodutivo e gênero funcional

Para cada indivíduo, nós também coletamos três botões e três flores de segundo dia, caracterizadas pela mudança de coloração das estruturas reprodutivas em função da senescência floral. Flores de segundo dia não são visitadas, como acontece em outras espécies de Melastomataceae que possuem mudança de cor floral (Pereira et al., 2011; Brito et al., 2015). Em cada estágio, estimamos a quantidade e viabilidade de grãos de pólen de todos os estames dos ciclos antepétalo e antessépalo ($n= 48$ estames/indivíduo, 24 estames/estágio). A contagem foi feita em câmara de Neubauer utilizando-se 10 μ L do total de uma solução com 200 μ L de carmim acético, onde os grãos de pólen de cada antera foram homogeneizados. A viabilidade polínica foi tomada a partir da coloração do citoplasma do pólen na solução em 1,2% (Radford et al., 1974). Os mesmos estágios foram usados para quantificação do número total de óvulos nos ovários. Nós usamos o número de grãos de pólen viáveis (esforço reprodutivo masculino) e óvulos (esforço reprodutivo feminino) para descrever o gênero funcional de cada indivíduo. As medidas de gênero foram estimadas através do método quantitativo de feminilidade de Lloyd (1980).

$$G = \frac{di}{di + li} \cdot \frac{\sum_i di}{\sum_i li}$$

onde, d_i corresponde ao número de óvulos e l_i ao número de grãos do pólen.

Essa medida usa uma escala padronizada variando de 0 a 1, com a média de todos os indivíduos ponderada pela sua aptidão total sempre igual 0.5 (Lloyd, 1980). Assim, valores de G próximos de 1 representam maior feminilidade, valores próximos de 0 representam maior masculinidade, enquanto 0,5 representa o hermafroditismo perfeito. Para estas medidas também fizemos análises gráficas de distribuição, comparações entre cada população através de teste t de Student para verificar diferenças na distribuição destas entre as populações e correlações de Pearson com parâmetros morfológicos.

2.4. Sucesso reprodutivo feminino e masculino e seleção fenotípica

Para detectar a intensidade e o padrão de seleção fenotípica atuando sobre os atributos florais através dos componentes de sucesso reprodutivo, nós estimamos os gradientes de seleção direcional, quadrática e correlacional através do modelo de Lande & Arnold (1983), conforme abaixo:

$$w = \alpha + \sum_{i=1}^n \beta_i \cdot z_i + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \gamma_{ii} \cdot z_i^2 + \sum_{i=1}^n \sum_{i < j} \gamma_{ij} z_i z_j$$

onde, w representa o sucesso reprodutivo relativo, z o valor padronizado de cada atributo (i e j) e β_i referem-se ao gradiente de seleção direcional, γ_{ii} ao gradiente de seleção quadrática e γ_{ij} ao gradiente de seleção correlacional. Embora não difiram na distribuição das medidas (ver abaixo), para controlar o efeito de eventuais diferenças entre populações, estas foram tomadas como um fator aleatório a este modelo linear.

Cada componente do sucesso reprodutivo foi usado para estimar w dado pela razão entre o sucesso absoluto (W) e a média populacional (\bar{W}). Para cada indivíduo coletamos três frutos maduros, não abertos, para a quantificação do número total de sementes. Esta variável foi tomada como estimativa do sucesso reprodutivo do componente feminino a partir o qual o sucesso relativo feminino (w_f) foi calculado.

Uma vez que em flores com anteras poricidas existe uma relação negativa entre o número de grãos de pólen liberados e a limitação polínica (Larson & Barrett, 1999), utilizamos a diferença entre o número de grãos de pólen viáveis nos botões florais e aqueles presentes em flores de segundo dia de cada ciclo de estame como estimativa da liberação de pólen para medida do sucesso reprodutivo masculino. O sucesso relativo masculino foi dividido entre os estames antepétalos (w_{ep}) e antessépalos (w_{es}) uma vez que nas flores Melastomataceae estes estão sob pressões de seleção diferentes: a pressão de alimentação das abelhas e de reprodução das plantas.

O gênero funcional das flores, a heteranteria e o tamanho dos estiletes foram os atributos escolhidos para as estimativas dos gradientes de seleção fenotípica. Desconsideramos o atributo forma em razão da relação alométrica previamente verificada em relação às medidas de tamanho (ver abaixo). As variáveis foram padronizadas para exibirem média zero e variância igual a um. Como as populações de *M. radula* estudadas não diferem em relação à distribuição de medidas morfológicas das estruturas reprodutivas e gênero funcional das flores, os resultados a seguir foram considerados a partir da junção de todos os indivíduos de ambos locais (Tabela. S. 1). As análises de regressões múltiplas foram geradas no programa R, onde os valores das estimativas descrevem os gradientes de seleção e os valores de p sua significância.

3. RESULTADOS

3.1. Morfologia e gênero

Os indivíduos apresentam dois níveis de distribuição com variação contínua no tamanho dos estiletes (i.e: curtos e médios/longos). Nos estames antessépalos esse padrão também é verificado (i.e: pequenos e grandes), mas nos estames antepétalos existe apenas um nível de distribuição (i.e: pequenos) (Fig. S. 2). A relação da heteranteria com o tamanho dos estiletes exibiu três níveis: 1. heteranteria baixa nos indivíduos de estiletes longos, 2. heteranteria intermediária naqueles de estiletes curtos e 3. heteranteria alta nos de estiletes médios (Fig. S. 3). Os valores máximos e mínimos dos componentes de deformação parcial (RW1 e RW2) descreveram dois padrões de forma para cada estrutura reprodutiva. Nos estiletes, os valores de RW1 descrevem a curvatura da região de inserção dessas estruturas no ovário, enquanto maiores valores de RW2 estão relacionados com formas mais lineares e valores menores com formas mais

sigmoides dessa estrutura. Nos estames, valores de RW1 e RW2 descrevem a curvatura das anteras e filetes respectivamente (Fig. S. 4). Houve correlação entre a forma e o tamanho de todas estruturas reprodutivas (Tabela S.2, Fig. S. 5).

Existe certo grau de especialização entre as funções femininas e masculinas nas populações. Os indivíduos variam entre mais masculinos ($G<0.5$), hermafroditas ($G=0.5$) e mais femininos ($G>0.5$) (Fig. S. 6). Nenhuma correlação foi verificada entre as variações de gênero e atributos morfológicos dos estiletes e estames (Tabela S. 2).

3.2. Sucesso reprodutivo e seleção fenotípica

Verificamos diferentes gradientes de seleção quadrática e correlacional atuando sobre os atributos florais através do componente masculino de sucesso reprodutivo, mas não do componente feminino (Tabela A. 1). Gênero e heteranteria apresentaram valores significativos de seleção correlacional através do sucesso masculino relativo estimado para os estames antepétalos ($\gamma_{ii}= 0.12868$, $p<0.05$). Indivíduos mais masculinos e com heteranteria baixa e mais masculinos e com heteranteria alta possuem combinações de atributos que favorecem a maior liberação de pólen nestes estames (Fig. A. 1). No sucesso estimado pelos estames antessépalos, tanto o gênero quanto o tamanho do estilete exibiram seleção. Para o atributo gênero, os gradientes de seleção direcional negativo e quadrático ($\beta_i= -0.608131$, $p< 0.001$, $\gamma_{ii}= 0.319529$, $p<0.01$), indicam que indivíduos mais masculinos e hermafroditas são favorecidos pela maior liberação de pólen neste ciclo de estames (Fig. A. 2). O gradiente de seleção quadrática positiva marginal indica seleção disruptiva no tamanho do estilete ($\gamma_i= 0.314292$, $p=0.058$). Indivíduos com estiletes curtos e longos também são favorecidos pela maior liberação de pólen nos estames antessépalos (Fig. A. 2).

4. DISCUSSÃO

Os indivíduos de *Macairea radula* apresentam atributos variáveis de ajuste morfológico com o polinizador e performance sexual. A associação de variações de tamanhos e formas encontrada em seus estiletes e estames indicam uma relação alométrica que pode contribuir para a seleção conjunta desses atributos, configurando

desvios de padrões morfológicos propostos para os sistemas florais clássicos reconhecidos previamente para estas plantas: a heteranteria e a heterostilia (Fracasso, 2008, Oliveira et al., dados não publicado). Da mesma forma, diferenças verificadas na alocação de esforços reprodutivos entre funções feminina e masculina de suas flores levam a expressão de distintos gêneros funcionais nos indivíduos, mesmo que estes sejam morfologicamente descritos como hermafroditas de flores bissexuais. Neste estudo, verificamos diferentes gradientes de seleção quadrática e correlacional através do componente masculino de sucesso reprodutivo, apontando padrões de seleção sexual-específica, mediada por seus polinizadores, pelos quais caminhos de uma dioicidade funcional e dimorfismos estilar e de heteranteria nas populações são apontados.

A alometria caracteriza associações entre atributos não só morfológicos, mas também funcionais, fisiológicos e ecológicos (Brookstein, 1991; Niklas, 2004; Klingenberg & Marugán-Lobón, 2013; Klingenberg, 2016). Em nossos resultados, a correlação encontrada entre forma e tamanho dos órgãos reprodutivos de *M. radula* indica a alometria morfológica destes atributos. Além disso, o desenvolvimento da forma e do tamanho de estiletes e estames também estão correlacionados entre eles. Assim, apesar da variação contínua desses atributos no nível populacional (Oliveira et al., dados não publicados), somente certos tipos florais finais são possíveis, o que facilita seu reconhecimento em campo e o que levou a sua prévia classificação como uma espécie heterostílica (Fracasso 2008). Por outro lado, a presença de diferentes gêneros funcionais (i.e. hermafroditas, femininos e masculinos), reflete esforços reprodutivos diferentes para as funções feminina e masculina em diferentes indivíduos (Lloyd, 1980; Bawa & Beach, 1981). Assim, como o esforço reprodutivo feminino e masculino podem ser associados ao tamanho das plantas, é possível que as relações alométricas também se estendem aos atributos de performance sexual, porém em uma escala funcional (Lloyd & Bawa, 1984; de Jong & Klinkhamer, 1989; Paquin & Aarssen, 2004). Nas flores de *M. radula* essas relações podem refletir funções comuns para estes atributos como a solução do dilema de pólen, a promoção de um ajuste morfológico e uma transferência acurada de pólen para reprodução (Armbruster, 2014). Logo, isso pode contribuir consideravelmente tanto para uma integração morfológica e funcional dos atributos de ajuste morfológico e performance sexual como para a quebra dos padrões clássicos esperados para a heteranteria, a heterostilia e o hermafroditismo descritos para a espécie.

Nos sistemas especializados de polinização, uma intensa integração floral é esperada, e isto pode condicionar a seleção de atributos florais em conjunto (Armbruster et al., 2004; Fenster et al., 2004; Ordano et al., 2008; Rosas-Guerrero et al., 2010). Assim, a interação das flores de *M. radula* com as abelhas que vibram gera pressões seletivas nos estames e estiletes que configuram cenários de covariações e de seleção simultânea de seus atributos através do componente masculino de sucesso reprodutivo. A seleção correlacional de atributos de gênero e heteranteria pode ser um reflexo direto disto. Através do sucesso relativo masculino, esta seleção revela dois picos adaptativos nos quais indivíduos mais masculinos e com baixa heteranteria e indivíduos mais masculinos e com níveis altos de heteranteria liberam mais pólen nos estames antepétalos. Possivelmente, essas combinações de atributos são favorecidas em razão do papel apresentado por estes estames na dinâmica de polinização dessas flores, ou seja, a oferta de pólen como recurso alimentar às abelhas (Oliveira et al., dados não publicados; Vellozo et al., 2018). Logo, indivíduos que produzem mais pólen, devendo suprir essa demanda funcional, são favorecidos. Embora a seleção desse atributo somente tenha sido apontada pelos estames antepétalos, os níveis de heteranteria de *M. radula* estão relacionados com mudanças de tamanho principalmente nos estames antessépalos. A baixa heteranteria corresponde à tamanhos reduzidos destes estames e isto favorece o acesso de seu pólen pelas abelhas e seu uso como recurso alimentar. Nos níveis mais altos, esses estames exibem tamanhos que beneficiam a função reprodutiva do pólen, dado o ajuste morfológico ao corpo do polinizador (Oliveira et al., dados não publicado). Este cenário explica porque a seleção de gênero, também através destes estames, favorece indivíduos mais masculinos e hermafroditas. São estes os que produzem mais pólen, permitindo que atendam tanto as funções alimentares como as reprodutivas atribuídas ao pólen de seus estames antessépalos (Oliveira et al., dados não publicado).

A heteranteria é principalmente visualizada por diferenças de tamanho dos estames, mas outros aspectos envolvidos neste sistema floral representam estratégias que garantem seu funcionamento através da divisão de trabalho como as formas, cores e odores diferentes, viabilidade e/ou quantidade diferente de pólen entre os estames (Luo et al., 2009; Vallejo-Marin et al., 2009 ; Wolowski & Freitas, 2010; Vellozo et al., 2018, Solís-Monteiro et al., 2018). Neste estudo vimos que a redução ou aumento no tamanho dos estames está relacionada a maiores ou menores curvaturas de suas anteras e filetes.

Assim é possível que a heteranteria de *M. radula*, que se caracteriza não apenas pela diferenciação no tamanho, mas também na forma dos estames, permita uma dinâmica de liberação diferencial dos grãos de pólen entre as diferentes formas de estames, de modo a garantir a efetividade das funções atribuídas à este recurso (Passarelli & Cocucci, 2006). Mecanismos alternativos de controle da liberação dos grãos de pólen, como o tamanho e forma das anteras aqui encontrados, são esperados uma vez que a deiscência poricida das anteras, por si só, pode não garantir o controle da perda excessiva deste recurso na interação de flores da espécie com abelhas que vibram, dada a eficiência destas na coleta (Buchmann, 1983, De Luca & Vallejo-Marín, 2013). Assim, acreditamos que maiores curvaturas nas anteras dos estames antepétalos e antessépalos em indivíduos com heteranteria baixa e menores curvaturas nas anteras dos estames antessépalos em indivíduos com heteranteria alta configurem uma estratégia adaptativa para controlar a remoção de pólen. Esse mecanismo pode garantir um ajuste entre tempo e a frequência de visitas necessárias das abelhas para viabilizar oportunidades reprodutivas iguais destes indivíduos.

A seleção de gêneros funcionais mais masculinos e hermafroditas através de ambos os ciclos de estames parece apontar possíveis rotas evolutivas no sistema sexual das populações de estudo. Nós presumimos que, se a especialização de indivíduos em gêneros funcionais masculinos canaliza a especialização de gêneros funcionais feminino em indivíduos ainda hermafroditas e uma razão sexual de 1:1, essas mudanças devem seguir as mesmas rotas propostas para a evolução da dioicia funcional (Verdú et al., 2004, Pannell & Verdú, 2006). Embora não saibamos ao certo o padrão dessa relação, é possível que indivíduos hermafroditas e com baixa heteranteria se especializem como mais femininos já que a maior parte do seu pólen é voltado para a alimentação das abelhas. De fato, a evolução da dioicia a partir do hermafroditismo envolve processos de seleção de gêneros funcionais nos indivíduos até que a unisexualidade se estabeleça por completo (Cardoso et al., 2018). Nessas plantas, este evento é representado como estratégia que previne a autopolinização e promove polinização cruzada (Bawa 1980, Barrett, 2002.). Acreditamos que a seleção de gêneros funcionais masculinos e hermafroditas (i.e. femininos em potencial) em *M. radula* pode estar atuando nesta rota. Ainda que em Melastomataceae a dioicia tenha sido reportada apenas no gênero *Miconia*, neste estudo a inconsistência do hermafroditismo em razão da expressão diferencial de gêneros funcionais sugere um caminho evolutivo

intermediário de dioicia, como parece ocorrer para esses representantes do gênero *Miconia* (Wurdack, 1980; Almeda & Door, 2006; Burke & Michelangeli, 2018). O escasso registro de dioicia possivelmente está associado à predominância da oferta de pólen como principal recurso nesta família. Este contexto torna a produção de pólen obrigatória na maioria das plantas de Melastomataceae caracterizando o hermafroditismo aparente, seja total ou parcial. Se, por outro lado, essas plantas apresentam também outros recursos florais para modular a interação com os polinizadores (e.g. néctar ou óleos) rotas evolutivas diferentes em seus sistemas sexuais poderiam ser canalizadas, como parece ocorrer em *M. radula* e em outras espécies de Melastomataceae (ver capítulo I; Brito et al., 2016; Dellinger et al., 2019).

Outra rota evolutiva da dioicia é sugerida a partir de sistemas heterostílicos, onde morfos longistilos geralmente estão associados às funções femininas e morfos brevistilos às funções masculinas (Lloyd, 1979; Barrett, 2002; Käefer et al., 2015). Neste caso, a perda de reciprocidade e a transferência imprecisa de pólen entre os morfos seleciona estes atributos através dos polinizadores (Armbruster, 2014). Neste evento de transição heterostilia-dioicia, a seleção de atributos de performance sexual parece estar relacionada com a seleção de atributos de ajuste morfológico. Neste estudo vimos que a além de gênero, estames antessépalos também apresentaram gradientes de seleção quadrática no tamanho dos estiletes. A seleção quadrática de estiletes curtos e longos parece estar conduzindo os indivíduos, nestas populações, à um dimorfismo destas estruturas. Esta configuração morfológica difere da heterostilia principalmente por uma perda da hercogamia recíproca, o que parece ocorrer em *M. radula*, já que existe também no nível dos estames uma pressão seletiva favorecendo a níveis diferentes, mas não recíprocos, de heteranteria nos indivíduos (Barrett et al., 2000; Ferrero et al., 2009; 2011; Oliveira et al., dados não publicados). Enquanto estiletes médios possivelmente não são selecionados nos indivíduos em consequência de uma inacurácia adaptativa, a seleção de estiletes curtos e longos reflete a acurácia destes na recepção de pólen, embora nos primeiros esta seja residual devido a competição direta com as abelhas pelo pólen como recurso (Armbruster, 2014). A alometria tamanho-forma nestas estruturas possivelmente também tem importante papel neste contexto. São os estiletes curtos e longos que exibem curvaturas próximas da região estigmática mais definidas, o que deve favorecer o toque em áreas seguras do corpo das abelhas onde

estas não acessam ou o comportamento de limpeza é menos potente (Oliveira et al., dados não publicados). Além disso, a distribuição de níveis mais altos de heteranteria, mostra a maior contribuição na doação de pólen para funções reprodutivas nos indivíduos de estilete curto. Já a presença de baixa heteranteria aponta para funções alimentares nos indivíduos de estilete longo

Caracterizada como uma típica flor de pólen, *Macairea radula* apresenta um sistema especializado de polinização em razão da interação com as abelhas que vibram. A oferta de pólen como principal recompensa a estes animais, entretanto, acarreta demandas conflitantes entre funções alimentares e reprodutivas deste recurso (Lunau et al., 2015). O dilema de pólen gera os cenários nos quais adaptações e estratégias reprodutivas se fazem necessárias. Nossos resultados mostram que, neste contexto, diferentes atributos de performance sexual e ajuste morfológico são selecionados através do sucesso reprodutivo masculino. Por estarem intimamente relacionados à reprodução das flores, a especialização de gêneros funcionais, o dimorfismo de estiletes e da heteranteria são selecionados por: 1. driblar esse conflito, através do particionamento eficaz de pólen e 2. otimizar o sucesso reprodutivo pela doação e recepção efetiva de pólen entre os indivíduos. A detecção de seleção destes atributos somente através do sucesso reprodutivo masculino aponta padrões de seleção pressupostos pela hipótese de função masculina (Bord & Calahan, 2000). Embora a hipótese contexto-dependente tenha mais suporte nos estudos envolvendo seleção fenotípica sexual-específica, em ambos os casos a seleção de atributos é intensamente afetada pelo processo de transferência de pólen e sua efetividade em fertilizar óvulos e alimentar as abelhas, o que inclui o papel chave dos polinizadores (Wilson et al., 1994; Ashman & Diefenderfer, 2001). Logo essas duas hipóteses ajudam a elucidar os padrões seletivos de atributos observados neste estudo.

5. AGRADECIMENTOS

Todos os autores agradecem ao professor Paulo Eugênio A. M. Oliveira e Orlando Cavalari pelo laboratório (LAMOVI - UFU) e material concedido para os registros de medidas de sucesso reprodutivo, ao Departamento de Biologia Vegetal Unicamp também pelo espaço e material concedido para preparação de material de pólen, em especial às Dra. Mariane Azevedo e Rebecca pelo apoio e ao professor Rodrigo Medel

pela oportunidade de aprendizado ao tema de seleção fenotípica e auxílio na escolha dos modelos usados. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

6. REFERÊNCIAS

- Adams, D. C., Rohlf, F. J., Slice, D. E. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the ‘revolution’. *Italian Journal of Zoology*, 71(1), 5-16. doi.org/10.1080/11250000409356545
- Almeda, F., Dorr, L. J. 2006. Miconia amilcariana (Melastomataceae: Miconieae), a new species from the Venezuelan Andes with notes on the distribution and origin of dioecy in the Melastomataceae. *Proceedings-California Academy of Sciences*, 57(12/24), 549.
- Armbruster, W. S. 2004. Floral integration, modularity, and precision: distinguishing complex adaptations from genetic constraints. *Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes*, 23-49.
- Armbruster, W. S., Corbet, S. A., Vey, A. J. M., Liu, S.J., Huang, S.Q. 2014a. In the right place at the right time: *Parnassia* resolves the herkogamy dilemma by accurate repositioning of stamens and stigmas. *Annals of Botany*. 113:97–103. doi.org/10.1093/aob/mct261
- Armbruster, W. S. 2014. Floral specialization and angiosperm diversity: phenotypic divergence, fitness trade-offs and realized pollination accuracy. *AoB Plants*, 6. doi.org/10.1093/aobpla/plu003
- Ashman, T. L., Diefenderfer, C. 2001 Sex ratio represents a unique context for selection on attractive traits: consequences for the evolution of sexual dimorphism. *American Naturalist*. 157, 334–347. doi.org/10.1086/319192
- Ashman, T. L., Morgan, M. T. 2004. Explaining phenotypic selection on plant attractive characters: male function, gender balance or ecological context? *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 271(1539), 553-559. doi.org/10.1098/rspb.2003.2642
- Bacci, L. F., Versiane, A. F. A., Oliveira, A. L. F., Romero, R. 2016. Melastomataceae na RPPN do Clube Caça e Pesca Itororó, Uberlândia, MG, Brasil. *Hoehnea*, 43(4), 541-556. doi.org/10.1590/2236-8906-27/2016
- Barrett, S. C., Jesson, L. K., Baker, A. M. 2000. The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany*, 85(suppl 1), 253-265. doi.org/10.1006/anbo.1999.1067
- Barrett, S. C. H. 2002a. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 3: 274-284. doi: 10.1038/nrg776

Barrett, S. C. H., Hodgins, K. A. 2006. Floral design and the evolution of asymmetrical mating. In Harder, L. D., Barrett, S. C. H. [eds.], *Ecology and evolution of flowers*, 239–254.

Barrett, S. C. H. 2010a. Darwin's legacy: the forms, function and sexual diversity of flowers. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 365: 351-368. doi.org/10.1098/rstb.2009.0212

Barrett, S. C. H. 2013 The evolution of plant reproductive systems: how often are transitions irreversible? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280(1765), 20130913. doi:10.1098/rspb.2013.0913

Bawa, K. S., Beach, J. H. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 254-274. doi: 10.2307/2398798

Bawa, K. S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 15-39

Bookstein, F. L. 1991. *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press, Cambridge

Brito, V. L., Weynans, K., Sazima, M., Lunau, K. 2015. Trees as huge flowers and flowers as oversized floral guides: the role of floral color change and retention of old flowers in *Tibouchina pulchra*. *Frontiers in plant science*, 6, 362. doi.org/10.3389/fpls.2015.00362

Brito, V.L.G., Fendrich, T.G., Smidt, E.C., Varassin, I.G., Goldenberg, R. 2016. Shifts from specialised to generalised pollination systems in Miconieae (Melastomataceae) and their relation with anther morphology and seed number. *Plant Biology* 18(4), 585–593.

Buchmann, S. L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: Jones, C.E., Litter, R.J. (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*, 73-113.

Burd, M., Callahan, H. S. 2000. What does the male function hypothesis claim? *Journal of Evolutionary Biology*, 13(5), 735-742. doi: 10.1046/j.1420-9101.2000.00220.x

Burke, J. M., Michelangeli, F. A. 2018. Six new species of Miconia (Miconieae, Melastomataceae) from the Andes. *Phytotaxa*, 361(2), 131-150. doi.org/10.11646/phytotaxa.361.2.1

Campbell, D. R. 1989. Measurements of selection in a hermaphroditic plant: variation in male and female pollination success. *Evolution*, 43(2), 318-334. doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb04230.x

Cardinal, S., Buchmann, S. L., Russell, A. L. 2018. The evolution of floral sonication, a pollen foraging behavior used by bees (Anthophila). *Evolution*, 72(3), 590-600. doi.org/10.1111/evo.13446

Cardoso, J. C. F., Viana, M. L., Matias, R., Furtado, M. T., Caetano, A. P. S., Consolaro, H., Brito, V.

L. G. . 2018. Towards a unified terminology for angiosperm reproductive systems. *Acta Botanica Brasilica*, 32(3), 329-348. doi.org/10.1590/0102-33062018abb0124

Casper, B. B. 1992. The application of sex allocation theory to heterostylous plants. In *Evolution and function of heterostyly*, 209-223.

Chartier, M., Löfstrand, S., Balthazar, M.V., Gerber, S., Jabbour, F., Sauquet, H., Schönenberger, J. 2017. How (much) do flowers vary? Unbalanced disparity among flower functional modules and a mosaic pattern of morphospace occupation in the order Ericales. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284(1852), 20170066. doi.org/10.1098/rspb.2017.0066

Dellinger, A. S., Chartier, M., Fernández-Fernández, D., Penneys, D. S., Alvear, M., Almeda, F., Michelangeli, F.A., Staedler, Y., Armbruster, W.S, Schönenberger, J. 2019. Beyond buzz-pollination—departures from an adaptive plateau lead to new pollination syndromes. *New Phytologist*, 221(2), 1136-1149. doi.org/10.1111/nph.15468

De Jong, T. J., Klinkhamer, P. G. L. 1989. Size-dependency of sex-allocation in hermaphroditic, monocarpic plants. *Functional Ecology*, 201-206. doi: 10.2307/2389301

De Luca, P. A., Vallejo-Marín, M. 2013. What's the —buzz! about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4), 429–435. doi.org/10.1016/j.pbi.2013.05.002

de Oliveira e Silva, M. A., & Romero, R. 2008. Melastomataceae das serras do município de Delfinópolis, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia*, 609-647. doi.org/10.1590/2175-7860200859401

Fenster, C. B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., Thomson, J. D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35, 375–403. doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347

Ferrero, V., Arroyo, J., Castro, S., Navarro, L. 2011. Unusual heterostyly: style dimorphism and selfincompatibility are not tightly associated in Lithodora and Glandora (Boraginaceae). *Annals of Botany*, 109(3), 655-665. doi.org/10.1093/aob/mcr222

Ferrero, V., Arroyo, J., Vargas, P., Thompson, J. D., Navarro, L. 2009. Evolutionary transitions of style polymorphisms in Lithodora (Boraginaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 11(2), 111-125. doi.org/10.1016/j.ppees.2009.01.004

Fracasso, C. M. (2008). Biologia da polinização e reprodução de espécies de Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra (MG). Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)-Universidade Federal de Campinas, Instituto de Biologia.

Harder, L. D., Aizen, M. A., Richards, S. A. 2016. The population ecology of male gametophytes: the link between pollination and seed production. *Ecology letters*, 19(5), 497-509. doi.org/10.1111/ele.12596

Hodgins, K. A., Barrett, S. C. H. 2008. Asymmetrical mating patterns and the evolution of biased style-morph ratios in a tristylos daffodil. *Genetics Research* 90(1) 3–15. doi.org/10.1017/S0016672307008956

Käfer J., Marais G. A, Pannell J. R. 2017. On the rarity of dioecy in flowering plants. *Molecular Ecology* 26(5), 1225-1241. doi.org/10.1111/mec.14020

Klingenberg, C. P. 2009. Morphometric integration and modularity in configurations of landmarks: tools for evaluating a priori hypotheses. *Evolution & development*, 11(4), 405–421. doi.org/10.1111/j.1525-142X.2009.00347.x

Klingenberg, C. P., Marugán-Lobón, J. 2013. Evolutionary covariation in geometric morphometric data: analyzing integration, modularity and allometry in a phylogenetic context. *Systematic biology*. 62(4), 591–610. doi.org/10.1093/sysbio/syt025

Klingenberg, C. P. 2016. Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development genes and evolution*, 226(3), 113-137.

Koch, L., Lunau, K., Wester, P. 2017. To be on the safe site—Ungroomed spots on the bee’s body and their importance for pollination. *PloS one*, 12(9), e0182522. doi.org/10.1371/journal.pone.0182522

Lande, R., Arnold, S. J. 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37(6), 1210–1226.

Larson, B. M., Barrett, S. C. H. 1999. The ecology of pollen limitation in buzz-pollinated *Rhexia virginica* (Melastomataceae). *Journal of Ecology*, 87(3), 371-381. doi.org/10.1046/j.1365-2745.1999.00362.x

Lloyd, D. G. 1979. Evolution towards dioecy in heterostylous populations. *Plant Systematics and Evolution*, 131(1-2), 71-80.

Lloyd, D. G. 1980. Sexual strategies in plants III. A quantitative method for describing the gender of plants. *New Zealand journal of botany*, 18(1), 103–108. doi.org/10.1080/0028825X.1980.10427235

Lloyd, D. G., Bawa, K. S. 1984. Modification of the gender of seed plants in varying conditions. *Evolutionary Biology*, 17, 225–338.

Lunau, K., Piorek, V., Krohn, O., Pacini, E. 2015. Just spines—mechanical defense of malvaceous pollen against collection by corbiculate bees. *Apidologie*, 46(2), 144-149. doi: 10.1007/s13592-014-0310-5

Luo, Z., Zhang, D., Renner, S. S. 2008. Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin's division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology*, 22(5), 794-800. doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01444.x

Luo, Z., Gu, L., Zhang, D.X. 2009. Intrafloral differentiation of stamens in heterantherous flowers. *Journal of Systematics and Evolution*. 47, 43–56. doi.org/10.1111/j.1759-6831.2009.00002.x

Moore, J. C., Pannell, J. R. 2011. Sexual selection in plants. *Current biology*, 21(5), R176-R182. doi.org/10.1016/j.cub.2010.12.035

Nicholls, M. S. 1986. Population composition, gender specialization, and the adaptive significance of distyly in Linum perenne (Linaceae). *New phytologist*, 102(1), 209-217.

Niklas, K. J. 2004. Plant allometry: is there a grand unifying theory?. *Biological reviews*, 79(4), 871-889. doi.org/10.1017/S1464793104006499

Ordano, M., Fornoni, J., Boege, K., Dominguez, C.A. 2008
The adaptive value of phenotypic floral integration.
New Phytologist. 179, 1183–1192. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02523.x

Pannell, J. R., Verdú, M. 2006. The evolution of gender specialization from dimorphic hermaphroditism: paths from heterodichogamy to gynodioecy and androdioecy. *Evolution*, 60(4), 660-673. doi.org/10.1554/05-481.1

Paquin, V., Aarssen, L. W. 2004. Allometric gender allocation in Ambrosia artemisiifolia (Asteraceae) has adaptive plasticity. *American Journal of Botany*, 91(3), 430-438. doi.org/10.3732/ajb.91.3.430

Passarelli, L., Cocucci, A. 2006. Dynamics of pollen release in relation to anther-wall structure among species of Solanum (Solanaceae). *Australian journal of botany*, 54(8), 765-771. doi.org/10.1071/BT05154

Pereira, A. C., da Silva, J. B., Goldenberg, R., Melo, G. A., Varassin, I. G. 2011. Flower color change accelerated by bee pollination in Tibouchina (Melastomataceae). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 206(5), 491-497. doi.org/10.1016/j.flora.2011.01.004

Radford, A. E., Dickison, W. C., Massey, J. R., Bell, C. R. 1974. *Vascular plant systematics*. New York: Harper & Row 891p.-Illus.. General (KR, 197800137).

Renner, S. S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 496-518. doi: 10.2307/2399497

Rosas, F., Dominguez, C. A. 2009. Male sterility, fitness gain curves and the evolution of gender specialization from distyly in Erythroxylum havanense. *Journal of evolutionary biology*, 22(1), 50-59. doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01618.x
Ipomoea. *Evolution*, 65, 350–364. doi:10.1111/j.1558-5646.2010.01140.x

Vallejo-Marín, M., Manson, J. S., Thomson, J. D., Barrett, S. C. 2009. Division of labour within flowers: heteranthery, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *Journal of evolutionary biology*, 22(4), 828-839.doi.org/10.1111/j.1420-9101.2009.01693.x

Vallejo-Marín, M., Da Silva, E. M., Sargent, R. D., Barrett, S. C. 2010. Trait correlates and functional significance of heteranthery in flowering plants. *New Phytologist*, 188(2), 418-425. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03430.x

- Vallejo-Marin, M., Walker, C., Friston-Reilly, P., Solis-Montero, L., Igic, B. 2014. Recurrent modification of floral morphology in heterantherous *Solanum* reveals a parallel shift in reproductive strategy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 369(1649), 20130256.
- van der Niet, T., Johnson, S. D. 2012 Phylogenetic evidence for pollinator-driven diversification of angiosperms. *Trends in ecology & evolution*.27(6), 353–361. doi:10.1016/j.tree.2012.02.002
- Velloso, M. S. C., Brito, V. L. G., Caetano, A. P. S., Romero, R. 2018. Anther specializations related to the division of labor in *Microlicia cordata* (Spreng.) Cham.(Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica*, 32(3): 349-358.. doi.org/10.1590/0102-33062017abb0358
- Verdu, M., Montilla, A. I., Pannell, J. R. 2004. Paternal effects on functional gender account for cryptic dioecy in a perennial plant. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 271(1552), 2017-2023. doi.org/10.1098/rspb.2004.2836
- Wilson, P., Thomson, J. D., Stanton, M. L., Rigney, L. P. 1994. Beyond floral Batemania: gender biases in selection for pollination success. *The American Naturalist*, 143(2), 283-296. doi.org/10.1086/285604
- Wurdack, J. J. 1980. 138. *Melastomataceae*. University of Got bory, Dept. of Systematic Botany.

APÊNDICE A – Tabela e Figuras

Tabela 1. Seleção fenotípica dos três atributos através dos componentes feminino (wf) e masculino (wep – estame antepétalo e wes – estame antessépalos) de sucesso reprodutivo de *Macairea radula* ocorrentes em Delfinópolis-SP e Uberlândia_MG, Brasil. Valores ± erro padrão dos gradientes de seleção direcional (β_i), quadrática (γ_{ii}) e correlacional (γ_{ij}) e erro padrão são apresentados. A significância estatística é representada por asteriscos e os valores apresentados abaixo.

		Atributo j		
			Gênero	Heteranteria
	Atributo i	$\beta_i \pm SE$	$\gamma_{ij} \pm SE$	$\gamma_{ij} \pm SE$
wf	Tamanho estilete	0.01684 ± 0.077	0.15708 ± 0.103	0.02426 ± 0.042
	Gênero	-0.03234 ± 0.043	0.08091 ± 0.072	-
	Heteranteria	0.05483 ± 0.049	0.014186 ± 0.110	-
wep	Tamanho estilete	0.01491 ± 0.102	0.29122 ± 0.111	0.09364 ± 0.059
	Gênero	-0.70037 ± 0.059 **	0.42852 ± 0.100**	-
	Heteranteria	-0.04402 ± 0.066	0.02731 ± 0.149	-
wes	Tamanho estilete	0.180209 ± 0.116	0.314292 ± 0.162▪	0.045945 ± 0.067
	Gênero	-0.608131 ± 0.067 ***	0.319529 ± 0.113 **	-
	Heteranteria	0.026404 ± 0.075	-0.208438 ± 0.169	-

*** p< 0.001, ** p< 0.01, * p< 0.05, ▪ p<0,1

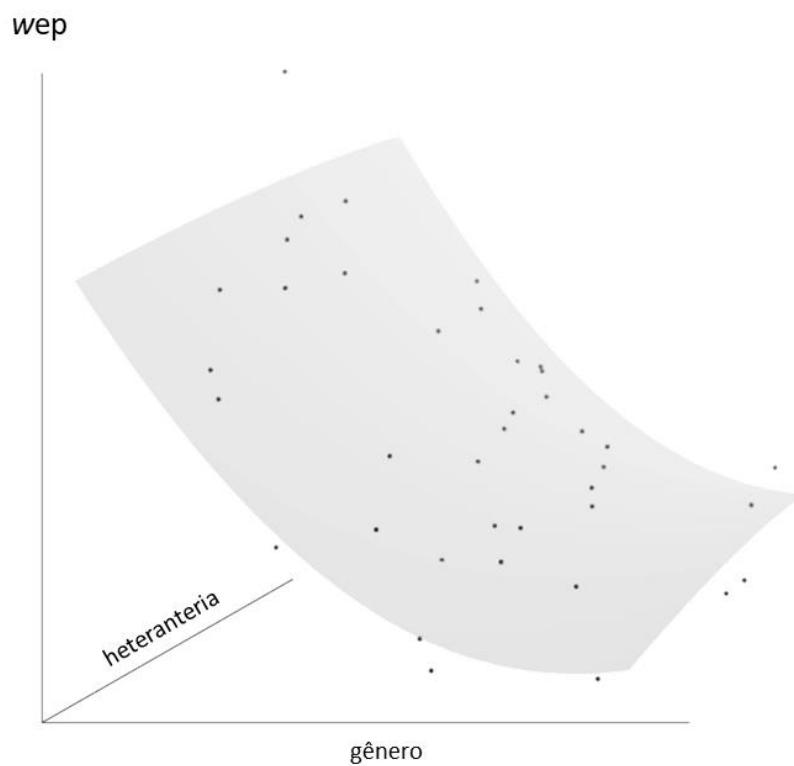


Fig. A. 1 Superfície representativa de seleção correlacional através do sucesso reprodutivo masculino dos estames antepétalos (wep) dos atributos heteranteria e gênero funcional das flores de *M. radula* ocorrentes nas populações de estudo.

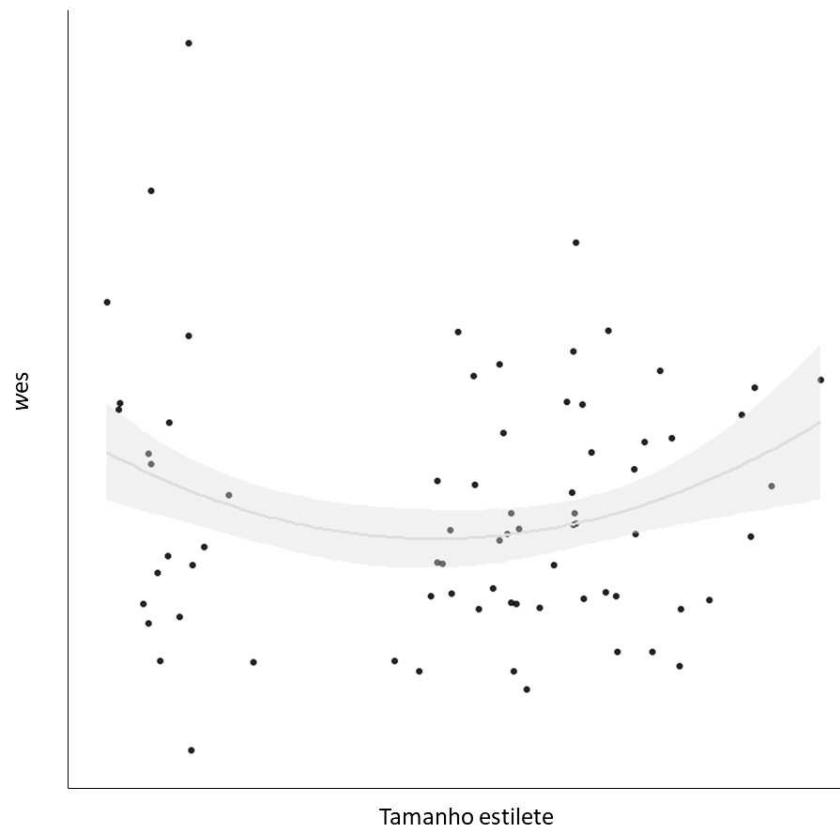
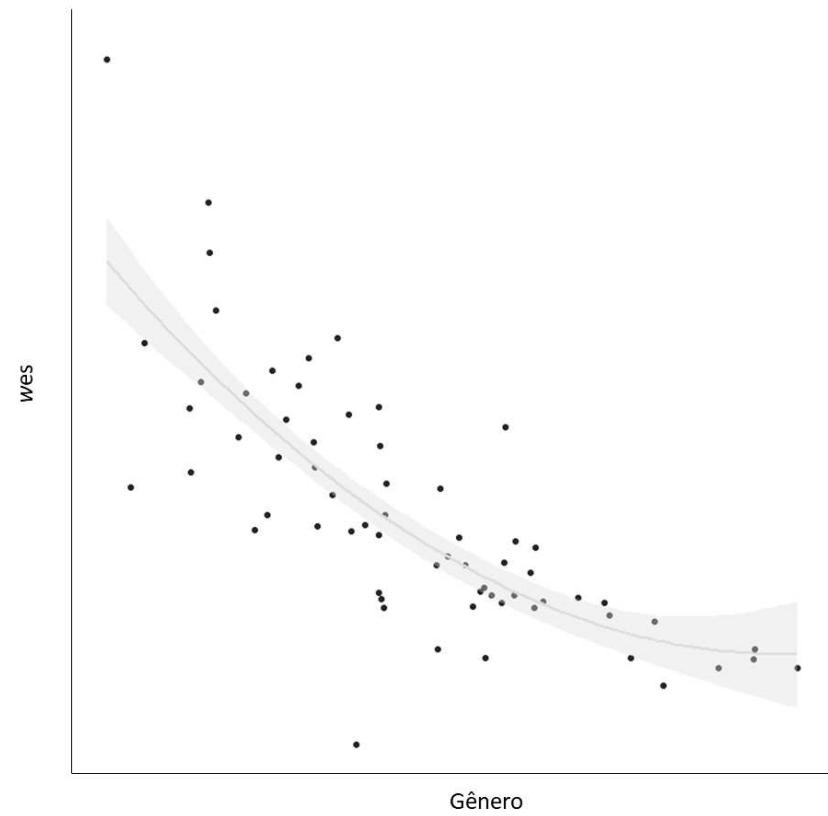


Fig. A. 2. Curvas representativas de seleção quadrática através do sucesso reprodutivo masculino dos estames antessépalos (wes) nos atributos gênero e tamanho do estilete das flores de *M. radula* ocorrentes nas populações de estudo.

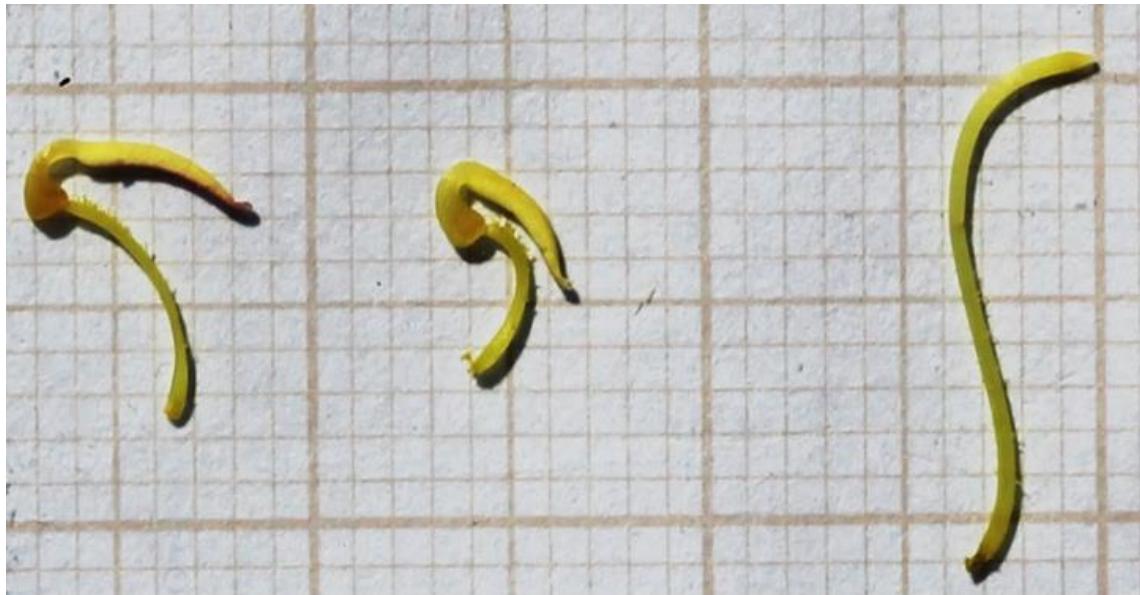
APÊNDICE B – Material Suplementar

Tabela S. 1. Média ± erro padrão de medidas tomadas para cada atributo das flores de *Macairea radula* nas populações de estudo. População 1: Fazenda Águas de Santo Antônio, Delfinópolis-MG e População 2: Fazenda Ourinhos, Uberlândia-MG. Letras iguais representando ausência de significância estatística.

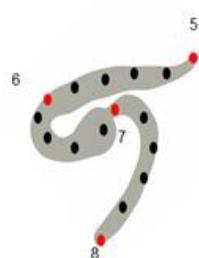
Atributo	População 1	População 2
Tamanho estilete	0,96 ($\pm 0,59$) ^a	0,93 ($\pm 0,04$) ^a
Forma estilete (RW1)	0,013 ($\pm 0,01$) ^a	0,017 ($\pm 0,01$) ^a
Forma estilete (RW2)	0,0048 ($\pm 0,006$) ^a	0,0050 ($\pm 0,007$) ^a
Heteranteria	0,54 ($\pm 0,033$) ^a	0,65 ($\pm 0,045$) ^a
Forma estame antepétalo (RW1)	0,12 ($\pm 0,024$) ^a	0,12 ($\pm 0,024$) ^a
Forma estame antepétalo (RW2)	0,042 ($\pm 0,016$) ^a	0,045 ($\pm 0,017$) ^a
Forma estame antessépalo (RW1)	0,122 ($\pm 0,026$) ^a	0,126 ($\pm 0,024$) ^a
Forma estame antessépalo (RW2)	0,028 ($\pm 0,011$) ^a	0,055 ($\pm 0,010$) ^a
Gênero	0,60 ($\pm 0,026$) ^a	0,59 ($\pm 0,028$) ^a

Tabela S. 2. Correlações de Pearson entre medidas de gênero funcional, forma e tamanho das estruturas reprodutivas das flores de *M. radula* nas duas populações de estudo. Ep: estame antepétalo, es: estame antessépalo. Asteriscos representam presença de significância estatística.

Correlação	R
Tamanho estilete x RW1	-0,69345*
Tamanho estilete x RW2	-0,45817*
Tamanho estilete x Gênero	0,12108
Tamanho estame ep x RW1	0,69542*
Tamanho estame ep x RW2	0,32924*
Tamanho estame ep x Gênero	0,08773
Tamanho estame es x RW1	0,69617*
Tamanho estame es x RW2	0,30977*
Tamanho estame es x Gênero	0,02564



Estame antissépalo



Estame antipétalo



Estilete

Fig. S. 1. Marcos (pontos vermelhos) e semi marcos (pontos pretos) anatômicos considerados para descrição da forma e tamanho de cada estrutura reprodutiva das flores de *Macairea radula* ocorrentes em Delfinópolis-MG e Uberlândia_MG, Brasil .

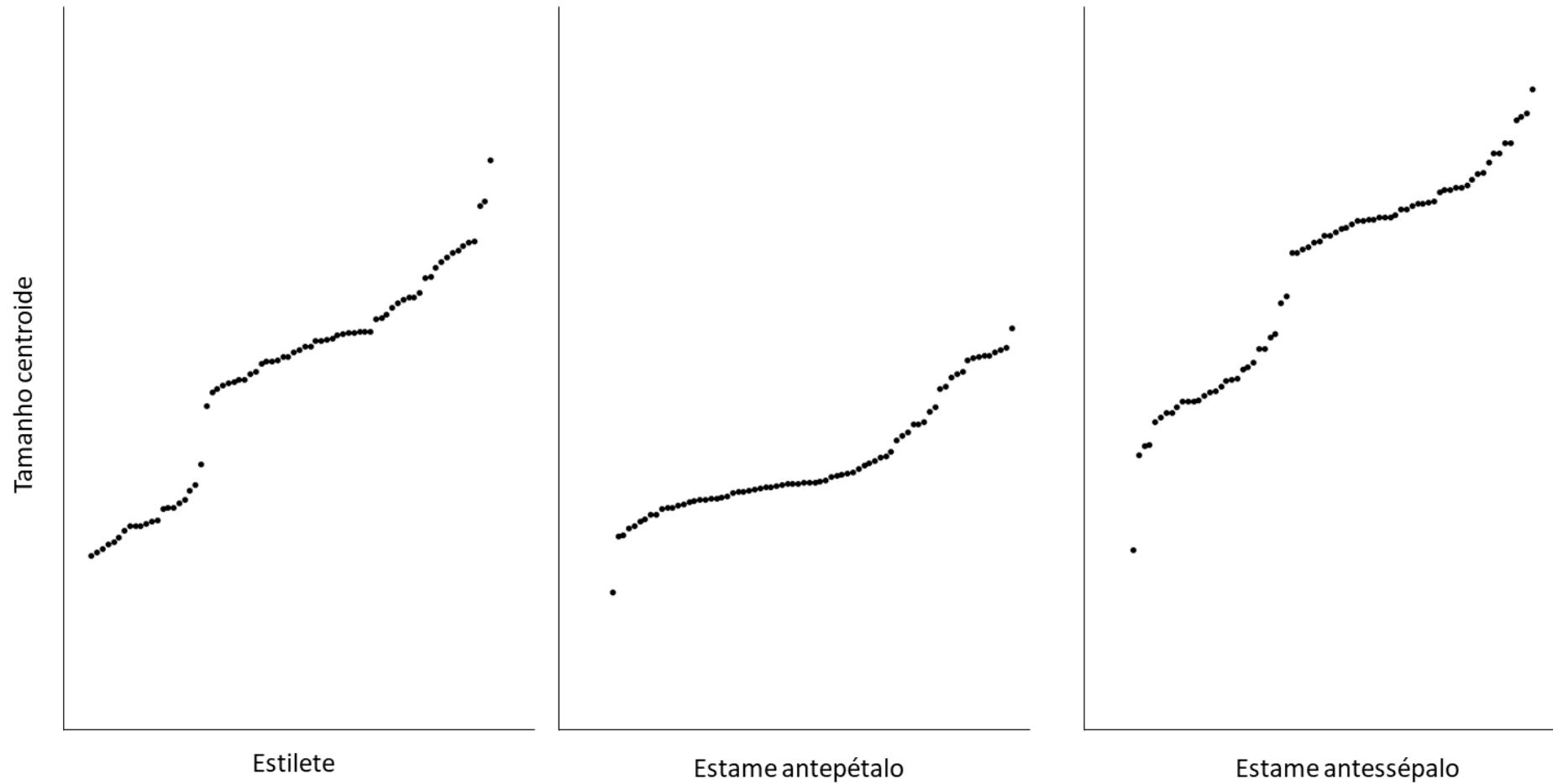


Fig. S. 2. Distribuição de tamanho do centroide para cada estrutura reprodutiva das flores de *Macairea radula* ocorrentes em Delfinópolis-MG e Uberlândia_MG, Brasil .

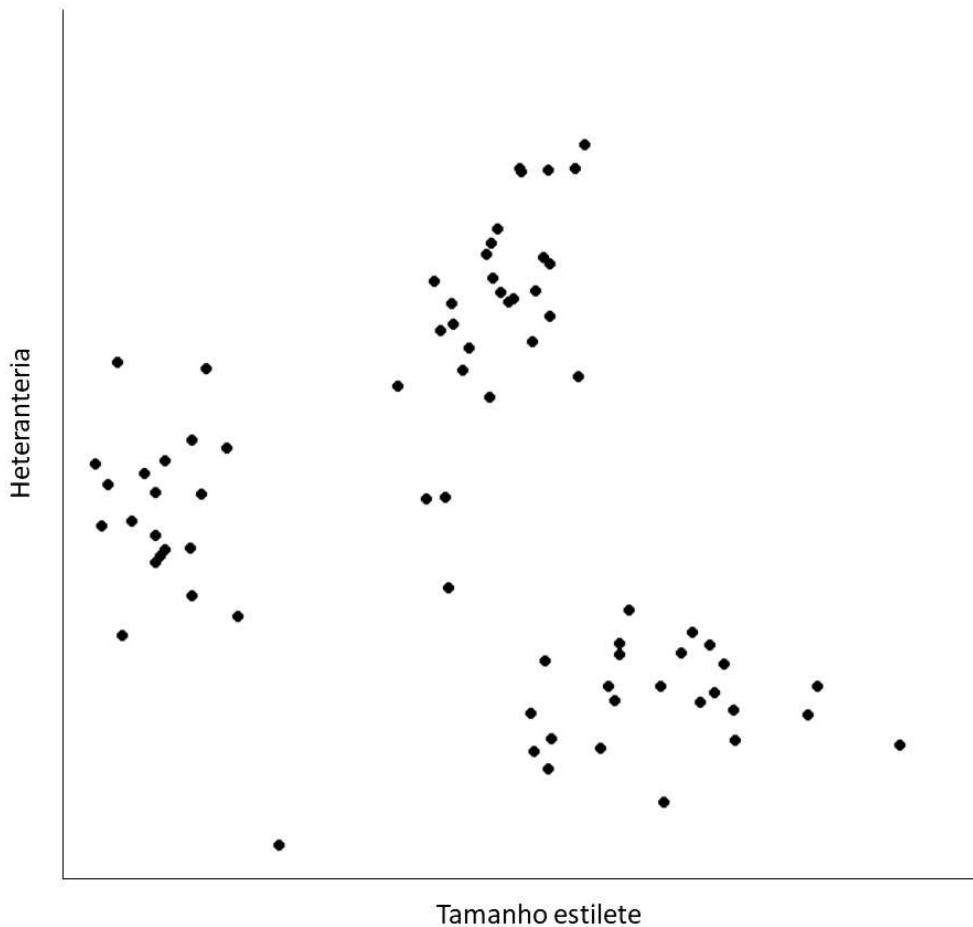


Fig. S. 3. Relação da heteranteria com tamanho dos estiletes das flores de *Macairea radula* ocorrentes em Delfinópolis-MG e Uberlândia_MG, Brasil .

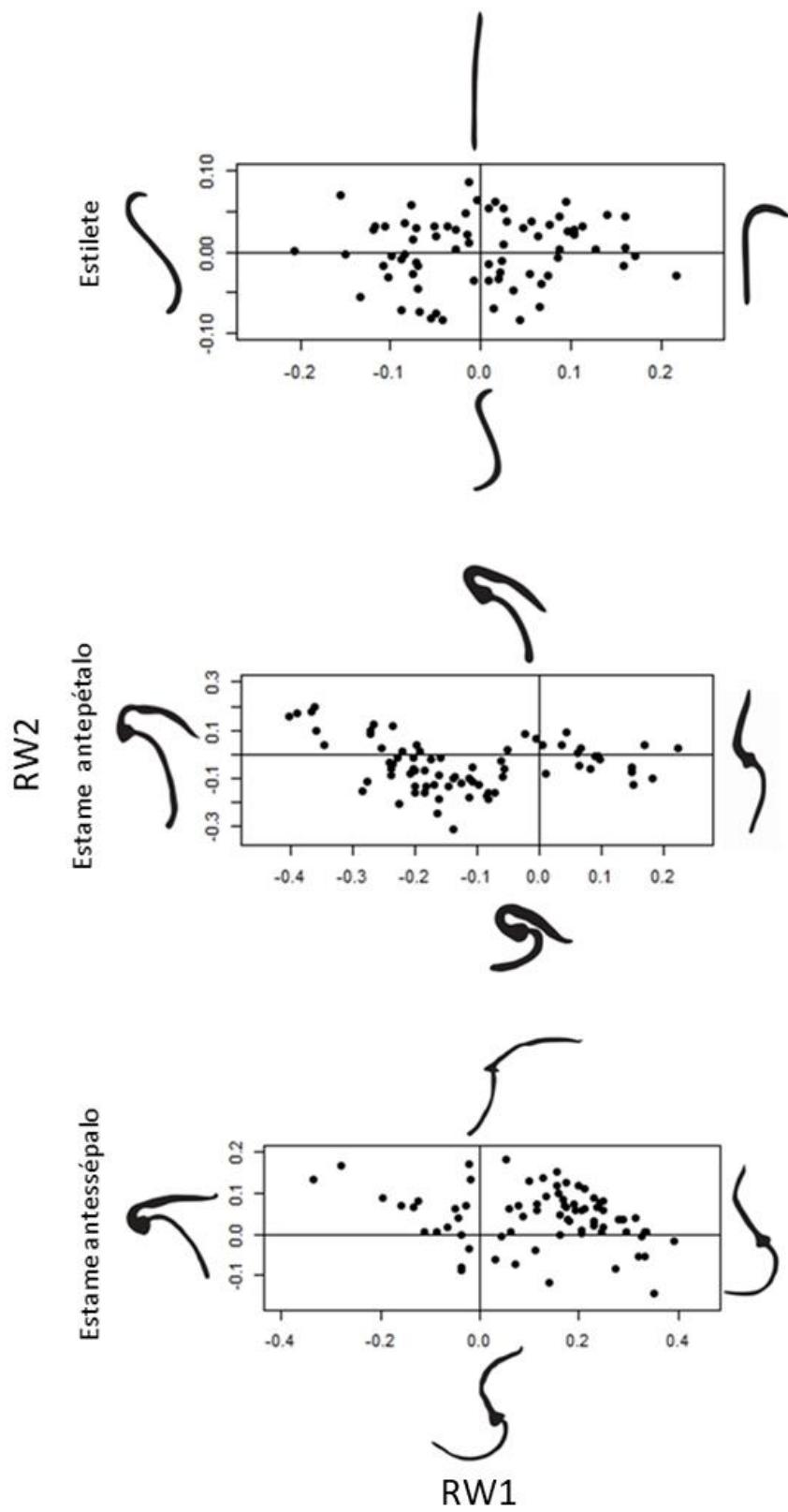


Fig. S. 4. Distribuição dos componentes de deformação parcial (RW1 e RW2) e representações de padrões de forma para cada estrutura reprodutiva das flores de *Macairea radula* considerados a partir de valores máximos e mínimos

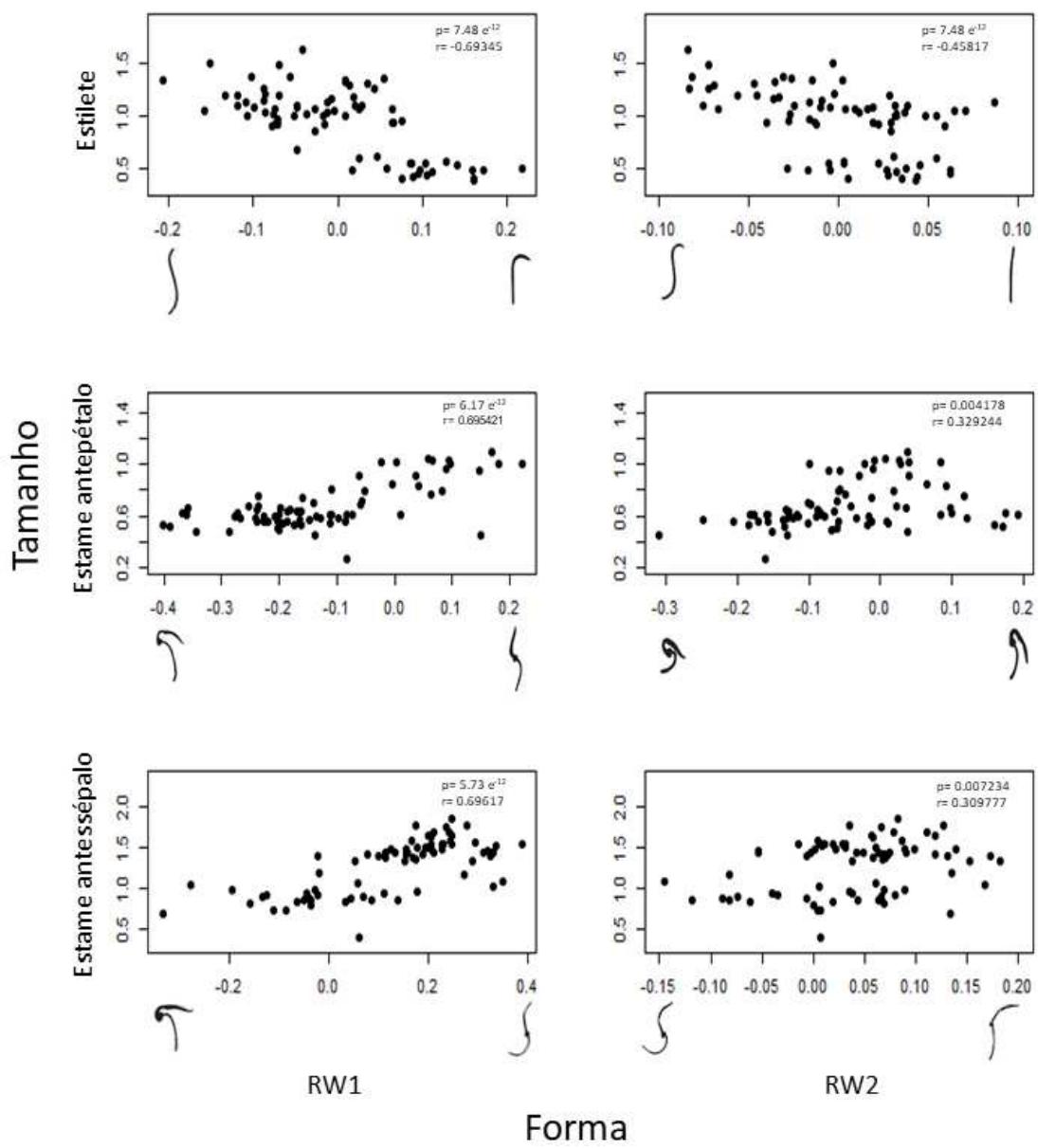


Fig. S. 5. Correlação de componentes de deformação parcial (RW1 e RW2) e tamanho de cada estrutura reprodutiva das flores de *Macairea radula* ocorrentes em Delfinópolis-MG e Uberlândia-MG, Brasil .

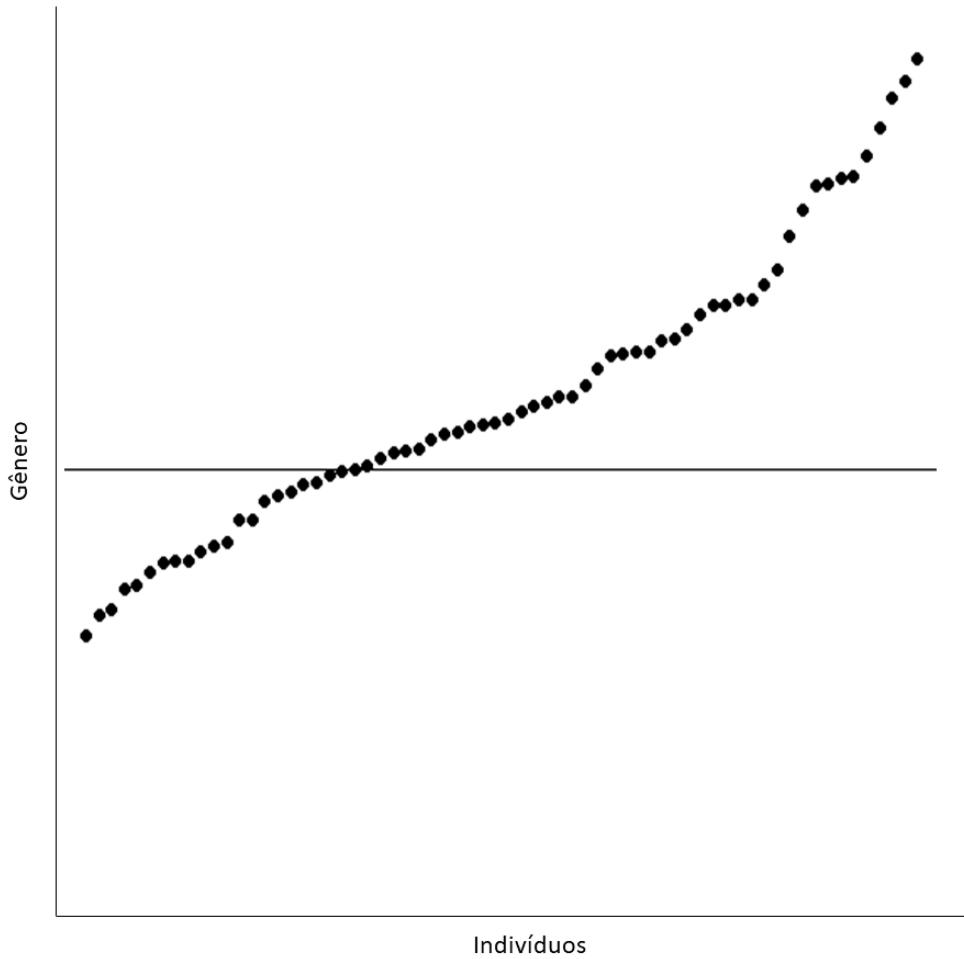


Fig. S. 6. Distribuição de gêneros funcionais entre os indivíduos de *M. radula* ocorrentes em Delfinópolis-MG e Uberlândia-MG, Brasil . Valores de gênero igual a 0,5 são indicados pela linha e representam o hermafroditismo perfeito, valores acima e - abaixo desta representam, respectivamente, gêneros funcionais feminino e masculino

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A oferta de óleo como um novo recurso floral, a especialização de gêneros funcionais e os dimorfismos de estilete e heteranteria aqui descritos, mostram como diferentes estratégias reprodutivas são estruturadas nas populações estudadas de *Macairea radula*. As demandas conflitantes desta típica flor de pólen, dadas principalmente pela interação com seus polinizadores, canalizam esses processos. A produção de um recurso diferente ao comumente ofertado pode representar um papel importante no aumento da diversidade de visitantes e potenciais polinizadores de *M. radula* além de favorecer uma partição de nicho entre os animais interagentes, reduzindo os conflitos ecológicos relacionados à oferta exclusiva de pólen. Da mesma forma, com a especialização de gêneros funcionais e seus dimorfismos florais estas plantas também evitam o dilema de pólen. Esses diferentes atributos tornam a partição de pólen eficaz e otimizam o sucesso reprodutivo destas plantas pela doação e recepção efetiva deste recurso entre suas flores. Embora estratégias como estas sejam ainda pouco exploradas para a família Melastomataceae, nossos resultados podem ajudar na elucidação de questões como aquelas relacionadas à evolução de diferentes sistemas reprodutivos e de polinização em plantas especializadas.