

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Curso de Ciências Biológicas

JOÃO PEDRO SANTOS PEREIRA

**INFLUÊNCIA DOS ATRIBUTOS FLORAIS DE *PLEROMA GRANULOSUM* (DESR.)
D. DON (MELASTOMATACEAE) NA LIBERAÇÃO DOS GRÃOS DE PÓLEN**

UBERLÂNDIA

2024

RESUMO

Aproximadamente vinte mil espécies de angiospermas oferecem apenas pólen como recompensa para os polinizadores, sendo suas flores conhecidas como “flores de pólen”. Isso resulta em um dilema evolutivo, uma vez que o pólen atua tanto como recurso oferecido para os polinizadores quanto como veículo dos gametas masculinos da planta. Uma das soluções para esse dilema é a heteranteria, uma característica que a planta desenvolve estames com funções diferentes, incluindo a forma como o pólen é disponibilizado ao visitante. A heteranteria é comum na família Melastomataceae, cujas flores geralmente são polinizadas por abelhas capazes de vibrar os músculos das asas para liberação dos grãos de pólen, num processo chamado “buzz pollination”. No entanto, além da própria heteranteria, pouco se sabe sobre como outros atributos morfológicos dessas flores afetam a liberação dos grãos de pólen. Dessa forma, este trabalho buscou compreender quais características morfológicas dos estames influenciam a liberação dos grãos de pólen em *Pleroma granulosum*. Para isso, foi utilizado vibrações artificiais para a remoção do pólen dos estames de *P. granulosu*. Existe uma correlação entre o tamanho e a forma dos estames, sendo que estames maiores apresentam uma morfologia distinta dos menores. A área do poro mostrou-se uma variável importante no controle da saída dos grãos de pólen, embora, de maneira contraintuitiva, pareça haver um tamanho de poro ideal para otimizar a liberação. Nossos resultados contribuem para um melhor entendimento das adaptações morfológicas que possivelmente favorecem a liberação eficiente de pólen em Melastomataceae. Estudos futuros poderão explorar mais amplamente a relação entre as propriedades vibratórias e as características morfológicas dos estames em diferentes espécies dessa família, aprofundando o entendimento sobre a evolução dos mecanismos de polinização nessas plantas.

Palavras-chave: Estames; Flores de pólen; Melastomataceae; Polinização por vibração.

ABSTRACT

Approximately twenty thousand angiosperm species offer only pollen as a reward to pollinators, and their flowers are known as "pollen flowers." This creates an evolutionary dilemma, as pollen serves both as a resource offered to pollinators and as the vehicle for the plant's male gametes. One solution to this dilemma is heteranthery, a trait where the plant develops stamens with different functions, including how pollen is made available to visitors. Heteranthery is common in the Melastomataceae family, whose flowers are often pollinated by bees capable of vibrating their wing muscles to release pollen grains, in a process known as "buzz pollination." However, beyond heteranthery itself, little is known about how other morphological attributes of these flowers affect pollen release. Thus, this study aimed to understand which morphological characteristics of the stamens influence pollen release in *Pleroma granulorum*. To achieve this, artificial vibrations were used to remove pollen from the stamens of *P. granulorum*. There is a correlation between the size and shape of the stamens, with larger stamens exhibiting distinct morphology compared to smaller ones. Pore area proved to be an important variable in controlling pollen release, although, counterintuitively, there appears to be an optimal pore size for maximizing release. Our findings contribute to a better understanding of the morphological adaptations that may favor efficient pollen release in Melastomataceae. Future studies could more broadly explore the relationship between vibrational properties and morphological characteristics of stamens in different species of this family, deepening our understanding of the evolution of pollination mechanisms in these plants.

Keywords: Stamens; Pollen flowers; Melastomataceae; Buzz pollination.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Pleroma granulosum</i>	4
Figura 2 - Set experimental	6
Figura 3 - Correlograma	8
Figura 4 - Probabilidade do pólen ser liberado em relação a área do poro mm ²	9
Figura 5 - Pólen liberado em relação a área do poro	10

SUMÁRIO

RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	4
2.1 Local de estudo e espécie modelo	4
2.2 Atributos estaminais	5
2.3 Quantidade de pólen liberado.....	5
2.4 Análises estatísticas	7
3. RESULTADOS	7
3.1 Morfologia dos estames de <i>P. granulosum</i>	8
3.2 Liberação dos grãos de pólen pelos estames de <i>P. granulosum</i>	8
.....	10
.....	10
4. DISCUSSÃO.....	10
5. CONCLUSÃO	13
6. REFERÊNCIAS.....	13
APÊNDICE A: LISTA DE FIGURAS E TABELAS DOS RESULTADOS DAS ANÁLISES MORFOMÉTRICAS E DA LIBERAÇÃO DE PÓLEN:	21

1. INTRODUÇÃO

As interações entre plantas e polinizadores são responsáveis pelo funcionamento contínuo de parte dos ecossistemas terrestres e pela diversificação das angiospermas (HERNANDÉZ-HERNANDÉZ e WIEN, 2020). O comportamento dos polinizadores e os atributos das flores atuam juntos como forças importantes na evolução das interações planta-polinizador, moldando a forma como essas interações se desenvolvem ao longo do tempo (CHITTKA e THOMSON, 2001). Atualmente, cerca de 90% das angiospermas são polinizadas por animais, principalmente insetos (OLLERTON *et al.*, 2011; STEPHENS *et al.*, 2023). Essa associação é mediada pela flor e se estabelece, em muitos casos, através de um recurso floral. Assim, na maioria das vezes, a polinização é vista como uma interação mutualística que proporciona algum benefício entre os integrantes, e incrementa o valor adaptativo de ambos, o que exige um equilíbrio entre os custos e os recursos envolvidos na interação (RECH *et al.*, 2014). Por exemplo, existem mecanismos florais complexos que permitem o acesso aos recursos por polinizadores especializados somente após a realização de movimentos estereotipados na flor que garantem a polinização (WESTERKAMP, 1996; BRITO *et al.*, 2010).

Entre os recursos florais, o pólen é o único recurso oferecido em aproximadamente 20.000 espécies de angiospermas e suas flores são conhecidas como “flores de pólen” (*sensu* VOGEL, 1978; BUCHMANN, 1983). Essas flores são polinizadas principalmente por abelhas, que usam o pólen como fonte de proteína e nitrogênio para alimentar suas larvas (WESTERKAMP, 1996; MICHENER, 2000; THORP, 2000). Isso gera um dilema evolutivo, visto que, neste sistema, o pólen apresenta duas funções principais: de ser o veículo dos gametas e alimento para visitantes florais (SCHLINDWEIN *et al.*, 2005). Como o pólen consumido pelos polinizadores deixa de estar disponível para a reprodução, seu uso como alimento pode reduzir o número de gametas disponíveis para a fertilização cruzada, afetando a aptidão reprodutiva da planta (VALLEJO-MARÍN *et al.*, 2009). Dessa forma, diferentes estratégias evoluíram nas plantas para regular a saída de pólen durante a visita de polinizadores, garantindo uma quantidade suficiente para reprodução (DE LUCA *et al.*, 2012).

Uma dessas estratégias é um tipo particular de sistema floral chamado heteranteria (CARDOSO *et al.*, 2018). A heteranteria, também chamada de dimorfismo de estames (MELO *et al.*, 2021), refere-se a presença de estames com diferentes formas, tamanhos e/ou cor em uma mesma flor, sendo uma característica comum na família Melastomataceae (LUO e ZHANG, 2009; VALLEJO-MARÍN *et al.*, 2010; MELO *et al.*, 2022). A primeira explicação sobre o

dimorfismo de estames foi proposta pelos naturalistas alemães Fritz Müller e seu irmão Hermann Müller. Eles propuseram que o dimorfismo de estames é uma especialização das anteras em dois tipos (MÜLLER, 1881; MÜLLER, 1882; MÜLLER, 1883; DARWIN, 1877). Os estames pequenos teriam a função de produzir o pólen que irá ser consumido pelos polinizadores, sendo chamados estames de alimentação, enquanto os estames grandes, serviriam para a reprodução (LUO *et al.*, 2008). Com base na explicação de Müller, Darwin (1899) cunhou o termo "divisão de trabalho", referente às duas funções distintas realizadas pelos estames. As anteras maiores (de reprodução) depositam os grãos de pólen em locais acessados pelo estigma, porém que as abelhas têm uma maior dificuldade de alcançar durante a limpeza, como na parte dorsal e lateral de seus corpos. (KOCH, LUNAU e WESTER, 2017). Enquanto as anteras menores (de alimentação) depositam mais pólen na parte ventral e estas são mais facilmente manipuladas pelos seus visitantes (VALLEJO-MARÍN *et al.*, 2009; LUO, GU, e ZHANG, 2009). A ocorrência de dimorfismo de estames está frequentemente relacionada com outros atributos florais, tais quais enantioestilia (deflexão lateral do estilete - para a direita ou esquerda - em relação ao eixo central da flor), ausência de nectários e anteras poricidas (VALLEJO-MARÍN *et al.*, 2010).

As flores de pólen com dimorfismo de estames e anteras poricidas geralmente são polinizadas por abelhas capazes de vibrar os músculos das asas para liberação do pólen, num processo chamado "*buzz pollination*". A capacidade de realizar a polinização por vibração evoluiu de forma independente, pelo menos, 45 vezes entre as abelhas e ocorre em mais de 80 gêneros (DE LUCA e VALLEJO-MARÍN, 2013; CARDINAL, BUCHMANN e RUSSELL, 2018). Durante a vibração floral, a abelha posiciona o lado ventral de seu corpo em torno das anteras, formando um "c", enquanto, com suas mandíbulas, agarra a base dos estames (WOODROW *et al.*, 2024). Em seguida, com as asas mantidas fechadas sobre o tórax e o abdômen, as abelhas geram vibrações com os músculos associados ao voo. Essas vibrações são diretamente transmitidas às anteras, fazendo com que os grãos de pólen saiam pelos poros apicais (BUCHMANN, 1983; BUCHMANN e HURLEY, 1978; ENDRESS, 1996; LUO, GU e ZHANG, 2009; VALLEJO-MARÍN *et al.*, 2010; DE LUCA *et al.*, 2012; DE LUCA e VALLEJO-MARÍN, 2013).

As vibrações realizadas pelas abelhas possuem três propriedades fundamentais: duração, frequência e amplitude (DE LUCA e VALLEJO-MARÍN, 2013). Em geral, a duração da vibração durante uma visita varia de 200-2000 milissegundos. O número de pulsos numa sequência de zumbidos é variável também. Por exemplo, em algumas espécies de *Bombus*, a

variação é de 1 a 17 pulsos (KING, 1993; KING e BUCHMANN, 1996). Ao contrário da duração, a frequência tende a apresentar uma maior constância, com um pico fundamental que varia de 100 a 400 Hz (DE LUCA e VALLEJO-MARÍN, 2013). Por fim, a amplitude se refere a quantidade de energia da vibração e usualmente pode ser expressa em: deslocamento, velocidade e aceleração (SUEUR, 2008). Sabe-se que todos esses parâmetros exercem influência na saída de pólen durante a vibração, principalmente a amplitude e a duração (DE LUCA *et al.*, 2013; DE LUCA e VALLEJO-MARÍN, 2013, ROSI-DENADAI *et al.*, 2018; PRICHARD e VALLEJO-MARÍN; 2020). As vibrações florais possuem uma alta aceleração, velocidade e frequência quando comparadas com vibrações realizadas na defesa e no voo (PRICHARD e VALLEJO-MARÍN; 2020).

As abelhas possivelmente ajustam a amplitude de suas vibrações de acordo com a quantidade de pólen disponível, sendo essa amplitude também influenciada pelo tamanho da abelha e pela idade da flor (DE LUCA e VALLEJO-MARÍN, 2013). As características florais como morfologia, geometria e o arranjo dos estames também podem afetar a propagação da vibração pela flor (ARROYO-CORREA, BEATTIE e VALLEJO-MARÍN, 2019; BRITO *et al.*, 2020; NEVARD *et al.*, 2021; VALLEJO-MARÍN, NUNES e RUSSELL, 2022). Logo, a liberação do pólen provavelmente irá variar entre as diferentes espécies de plantas devido a diferença nas estruturas florais, como a morfologia dos estames (BOCHORNY *et al.*, 2021; KEMP e VALLEJO-MARÍN, 2021; VALLEJO-MARÍN, NUNES e RUSSELL, 2022). No entanto, ainda se sabe pouco sobre como as características florais interferem na saída dos grãos de pólen, principalmente em um ambiente onde as vibrações são controladas. Dado a imensa diversidade de formas e tamanhos dos estames nas flores de Melastomataceae (MELO *et al.*, 2022; KOPPER, SCHÖNENBERGER e DELLINGER, 2024), que podem variar dentro da mesma flor, é de se esperar que haja também algum efeito da morfologia floral na liberação dos grãos de pólen quando as características do comportamento de vibração das abelhas durante a visita são mantidas constantes.

Desta forma, com base no dilema enfrentado pelas plantas de pólen e os custos e benefícios envolvidos na polinização por vibração, hipotetizamos que os atributos morfológicos florais atuam diretamente na regulação da saída dos grãos de pólen durante a visita. Assim, o objetivo do presente estudo foi analisar como os seguintes atributos: (1) tamanho, (2) a forma, (3) tamanho do poro e (4) a quantidade de corrugas nas anteras podem interferir na liberação do pólen nos dois tipos de estames de *Pleroma granulosum*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de estudo e espécie modelo

A coleta de dados e os experimentos foram realizados no campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), localizado no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. A área de estudo (170.555 m²) está inserida numa vegetação do tipo cerrado, com clima do tipo Aw segundo Köppen, exibindo sazonalidade com ocorrência de chuvas no verão e seca no inverno (ROSA *et al.*, 1991). A espécie *Pleroma granulatum* (Desr.) D. Don pertence à família Melastomataceae que comumente possui estames com deiscência poricida, anteras falciformes e oferecem apenas pólen como recurso. Estas características fazem com que sejam suscetíveis apenas à polinização por vibração (RENNER; 1989). *Pleroma granulatum* (Fig.1) possui flores com corola de cor roxa ou rosa, diplostêmones, bissexuadas, estames dispostos em dois ciclos distintos e anteras poricidas (GUIMARÃES *et al.*, 2019). O ciclo antessépalo apresenta os estames maiores (estames de reprodução), enquanto o ciclo antepétalo tem-se os estames menores (estames de alimentação).

Figure 1 - *Pleroma granulatum*



Flor de *Pleroma granulatum* (A) e seus estames (B). Caracterizados por se dividirem em ciclos: os antesépalos (C) e os antepétalos (D). Cada estame possui um poro apical (E), bem como a presença de suturas em sua parte ventral (F). Barra de escala: A = 18 mm; B, C, D = 10 mm; E, F = 2 mm.

Fonte: O autor (2024).

2.2 Atributos estaminais

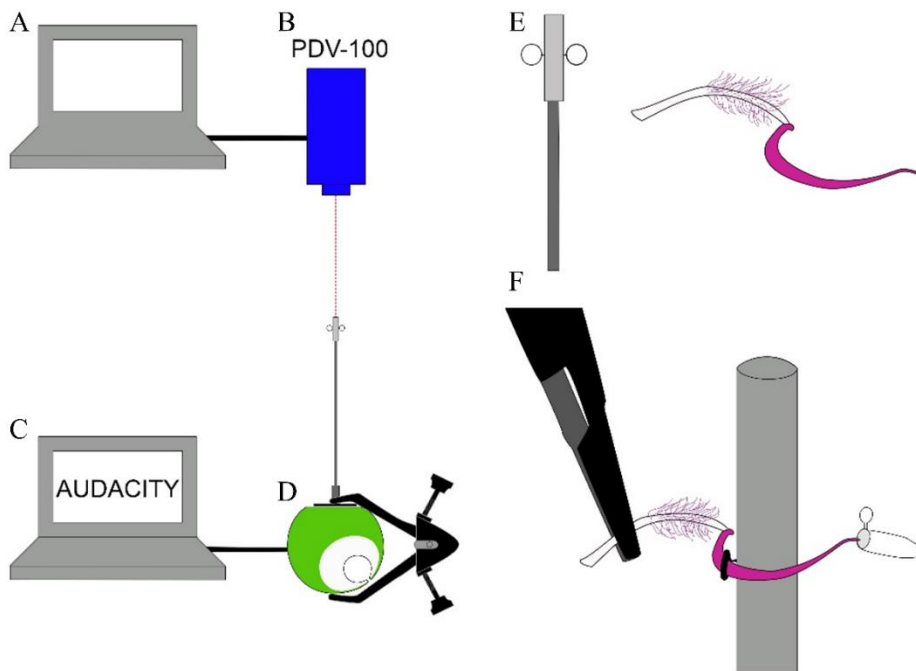
Selecionamos 740 estames de 185 flores pertencentes a 19 indivíduos para a análise dos atributos estaminais. O diâmetro do poro das anteras foi estimado através de fotografia realizadas por meio de uma câmera acoplada em uma lupa. Posteriormente, as imagens foram analisadas no programa ImageJ para o cálculo da área do poro. A fim de estimar o tamanho dos estames e a curvatura da antera, os estames de cada ciclo foram dispostos em um papel milimetrado e fotografados por uma câmera (Canon EOS Rebel SL3). Para o cálculo das medidas, as imagens foram organizadas no programa tpsUtil e marcos e semi-marcos foram obtidos no programa tpsDig. Os marcos são definidos pela homologia das coordenadas num espaço bidimensional, representando a morfologia comum encontrada em diferentes plantas. Definimos 16 marcos e semi-marcos anatômicos distribuídos nos estames de cada ciclo (Apêndice, imagem 1). Definimos quatro marcos anatômicos, que correspondem, respectivamente, ao poro das anteras, à inserção das anteras no conectivo do estame, à inserção do filete no conectivo e à inserção do filete no hipanto floral. Os semi-marcos foram definidos como coordenadas igualmente espaçadas entre esses pontos ao longo do contorno dos estames, totalizando 12 semi-pontos de referência (OLIVEIRA *et al.*, 2020). As variáveis de forma foram geradas no pacote *geomorf* (ADAMS *et al.*, 2021) por meio de uma Análise Generalizada de Procrustes (GPA) no ambiente de programação R (versão 4.1.0). Por fim, a contagem de suturas das anteras foi feita através de um estereomicroscópio. Para manter a parcialidade, todas as medidas foram feitas pelo mesmo(a) pesquisador(a).

2.3 Quantidade de pólen liberado

As inflorescências foram coletadas no final da tarde do dia anterior ao experimento e deixadas em garrafas com apenas água para evitar a dessecação. Em seguida, as flores velhas foram removidas, deixando somente os botões florais que iriam abrir no dia seguinte. Os experimentos foram conduzidos entre 07:30h e 10:40h em ambiente climatizado, sempre a uma temperatura ambiente de 20°C. Para determinar a dinâmica de liberação do pólen de cada ciclo, as anteras foram vibradas artificialmente por meio de um caixa de som adaptada (Fig. 2). Para ajustar os parâmetros do nosso experimento, utilizamos o software livre Audacity (disponível em: <https://www.audacityteam.org/>). As vibrações eram compostas de um tom puro (300 Hz), velocidade de amplitude de 250mm/s, com uma onda senoidal feita de cinco pulsos consecutivos de 200 milissegundos (ms) cada um com 200 ms de silêncio entre pulsos, totalizando um comprimento de estímulo de 2 segundos. Dois estames de cada ciclo (ou seja, dois antepétalos e dois antessépalos) foram colocados na circunferência da haste fixada a uma

caixa de som e submetidos à vibração, um de cada vez (Fig. 2). Para padronizar a vibração, todos os estames foram vibrados com a circunferência posicionada no mesmo local da antera (região do pedoconectivo), bem como o mesmo ângulo. Usamos um vibrômetro laser (PDV-100, Polytec, Waldbronn, Alemanha) para calibrar a amplitude de vibração e verificar se a frequência de reprodução correspondia à frequência de entrada (Fig. 2). Essa calibração foi feita no início de cada dia do experimento, e novamente após a extração do pólen de 5 flores. A frequência e a amplitude da vibração foram verificadas por meio do software Vibsoft-20 (Polytec, Waldbronn, Alemanha). Durante a vibração, posicionamos na frente da antera um eppendorf para coletar os grãos de pólen (e.g. DE LUCA e VALLEJO-MARÍN, 2013). As amostras de pólen foram suspensas em 60 μ l de solução de cloreto de sódio 0,9%. Para estimar o número de grãos de pólen em cada amostra, utilizamos um contador de células (Countess II Automated Cell Counter, TermoFisher Scientific). Para cada amostra, a quantidade de pólen foi contada em quatro subamostras de 10 μ l, que corresponde a duas lâminas do contador.

Figure 2 - Set experimental



A caixa verde representa a caixa de som (D), que está acoplado a um computador equipado com o aplicativo Audacity (C), permitindo o controle da composição da onda. A partir da caixa de som, se estende a haste (E) com duas argolas no ápice, na qual o estame é posicionado com a ajuda de uma pinça (F). O vibrômetro, indicado em azul (B), permanece paralelo à haste e está conectado a um computador (A).

Fonte: Matallana-Puerto (2024).

2.4 Análises estatísticas

Para entender como as características morfológicas dos estames de *P. granulosum* influenciam na liberação dos grãos de pólen, primeiramente analisamos se tais atributos morfológicos estavam correlacionados entre si. Para isso, montamos um correlograma entre as variáveis morfológicas, sendo: área do poro, quantidade de suturas, tamanho do estame e o formato da antera (que corresponde aos componentes principais 1 e 2 obtidos a partir da análise morfométrica). A partir daí, excluimos as variáveis significativamente correlacionadas das análises subsequentes.

Para analisar se os atributos morfológicos interferem na probabilidade de liberação de pólen pela antera, inicialmente excluimos valores estimados de pólen liberado que estivessem acima ou abaixo de três desvios padrões da média a fim de evitar possíveis erros de estimativas (BRITO *et al.*, 2021). Com esses dados, construímos um modelo linear generalizado no qual a liberação de pólen foi uma variável binária (liberou ou não liberou) e o tamanho do centroide dos estames e a área do poro foram as variáveis preditoras. Aqui usamos uma distribuição de erro do tipo binomial com função link “*logit*”.

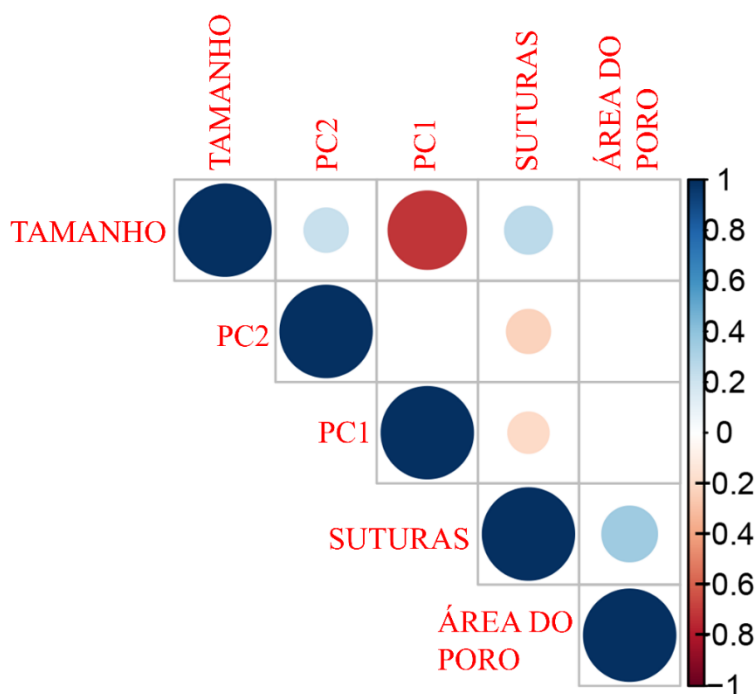
A partir disso, verificamos se a quantidade de pólen liberado estava relacionada à área do poro e ao tamanho do estame fazendo uma seleção de modelos lineares generalizados. Nesse caso, construímos uma sequência de modelos com complexidade decrescente da seguinte maneira: *modelo completo*, onde a quantidade de pólen liberada é explicada pela área do poro e o tamanho do estame, bem como pela interação entre essas duas variáveis; *modelo tamanho do estame*: onde a quantidade de pólen liberada é explicada apenas pelo tamanho do estame; *modelo área do poro*: onde a quantidade de pólen liberada é explicada somente pela área do poro e; *modelo nulo*: onde a quantidade de pólen liberada é explicada apenas pelo intercepto do modelo. Após ajustados, esses modelos foram então comparados segundo o critério de Akaike, seguindo a regra de que os melhores modelos apresentam DeltaAIC menor que 2 (BURNHAM; ANDERSON, 2002). Todas as análises foram feitas no ambiente de programação R (versão 4.1.0) utilizando os pacotes *AICcmodavg* (MAZEROLLE, 2022), *glmmTMB* (BROOKS *et al.*, 2017), *DHARMa* (HARTIG, 2024), *emmeans* (LENTH, 2024), *ggeffects* (LÜDECKE, 2018), *effects* (FOX e WEISBERG, 2019), *car* (FOX e WEISBERG, 2019), *ggplot2* (WICKHAM, 2016) e *dplyr* (WICKHAM *et al.*, 2023).

3. RESULTADOS

3.1 Morfologia dos estames de *P. granulorum*

Medimos um total de 702 estames distribuídos em 175 flores de 19 indivíduos. Esses estames apresentaram uma grande variação tanto intra como interindividual em forma e em tamanho. O número de suturas está fortemente correlacionado com as outras variáveis (Fig. 3, Fig. A2). No entanto, a correlação mais forte foi entre o tamanho dos estames e PC1, mostrando que estames maiores tem forma diferente de estames menores (Fig. 3, Fig. A2). Vale destacar também que o tamanho do poro não está correlacionado com nada, ou seja, estames pequenos ou grandes, independente da forma, podem ter qualquer tamanho de poro (Fig. 3, Fig. A2).

Figure 3 - Correlograma



Correlograma mostrando a correlação existente entre os atributos estaminais. Cores azuladas representam correlações positivas, enquanto cores avermelhadas indicam correlações negativas. O tamanho dos círculos reflete a força da correlação, variando de fraca (círculos pequenos) a forte (círculos grandes). Valores próximos de 1 indicam uma correlação positiva forte, e valores próximos de -1 indicam uma correlação negativa forte. Valores próximos de 0 indicam ausência de correlação significativa.

Fonte: O autor (2024).

3.2 Liberação dos grãos de pólen pelos estames de *P. granulorum*

Nos estames de *P. granulorum*, independentemente do tamanho, anteras com maior área de poro tem maior probabilidade de liberar grãos de pólen (LR Chisq = 12,08; Df = 1; $p < 0,01$; Fig. 4, Tabela A1). Além disso, o modelo completo, ou seja, aquele em que a quantidade de pólen liberada é explicada pela área do poro e o tamanho do estame, bem como pela interação

entre essas duas variáveis, foi o único que obteve valor de ΔAIC menor que 2 (Tabela A2). Porém, ao tabelar essas relações, novamente a área do poro é a única variável a explicar a liberação dos grãos de pólen ($Chisq = 7,69$; $Df = 1$; $p < 0,01$; Fig. 5; Tabela A3). Neste caso, anteras com menor área de poro liberaram mais grãos de pólen (Fig. 5).

Figure 4 - Probabilidade do pólen ser liberado em relação a área do poro mm^2

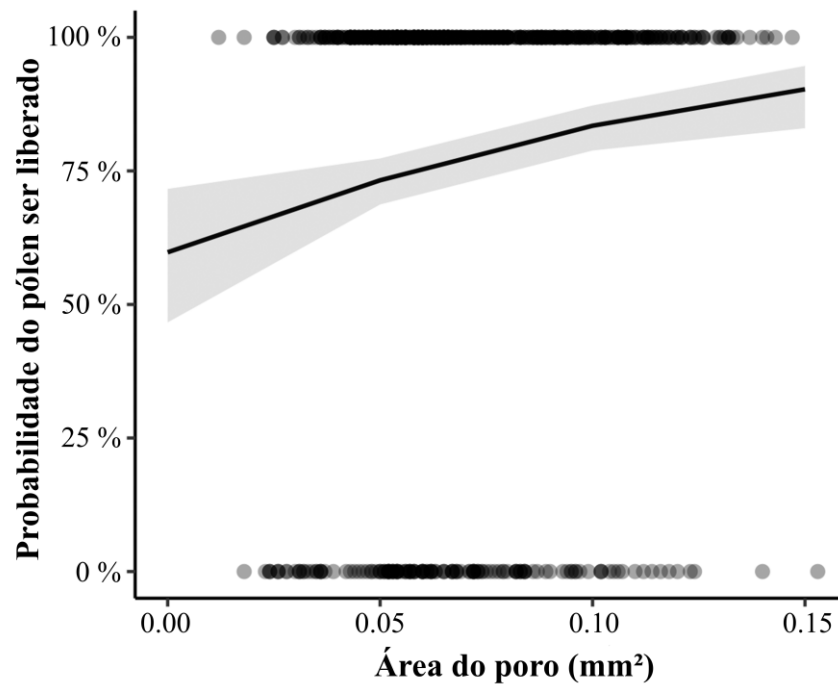


Gráfico do modelo completo mostrando a relação existente entre a probabilidade de o pólen ser liberado (eixo y) e a área do poro (eixo x). Quanto maior a área do poro, maior a probabilidade de o pólen ser liberado.

Fonte: O autor (2024).

Figure 5 - Pólen liberado em relação a área do poro

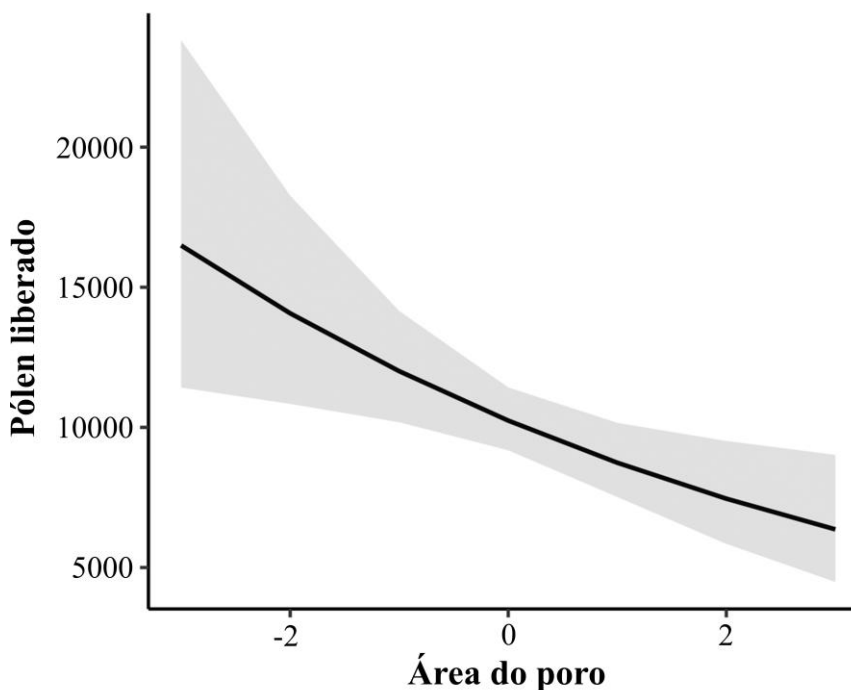


Gráfico demonstrando a relação existente entre o pólen liberado (eixo y) e a área do poro (eixo x). Quanto maior a área do poro, menor o pólen liberado.

Fonte: O autor (2024).

4. DISCUSSÃO

Apesar da dinâmica de liberação do pólen já ter sido estudada em espécies da família Melastomataceae (DELLINGER *et al.*, 2019; BOCHORNY *et al.*, 2021; BRITO *et al.*, 2021), nosso estudo foi o primeiro a avaliar quais atributos dos estames interferem na liberação de pólen com as variáveis da vibração controladas. Nossos resultados sugerem que a área do poro é uma variável importante para o controle da saída dos grãos de pólen, mas, de maneira contraintuitiva, parece existir um tamanho de poro ótimo para a liberação. Além disso, encontramos diferença na forma dos estames dos diferentes verticilos.

Os estames da família Melastomataceae exibem uma grande variação em seus atributos, sendo caracterizados pela presença em diferentes verticilos de uma mesma flor e variando em forma, tamanho e/ou cor (MELO *et al.*, 2022). Assim como em outras espécies de Melastomataceae (VELLOSO *et al.*, 2018; SAAB *et al.*, 2021; LUO *et al.*, 2008), os estames de *Pleroma granulosum* diferenciam-se em grandes (antesépalos) e pequenos (antepétalos). Os estames grandes possuem um pedoconectivo mais alongado e apresentam uma maior deflexão da antera em direção à parte ventral, posicionando o poro em direção ao eixo central da flor (Fig. A3). Em contraste, os estames pequenos têm um pedoconectivo menos alongado e a antera defletida em sentido a parte dorsal (Fig. A3). No nosso estudo, os estames de *P. granulosum*

não apresentaram variação acentuada na curvatura dos filetes, tanto entre si quanto dentro de cada grupo, o que difere de dos estames de *Macairea*, onde ambos os verticilos exibem uma correlação positiva entre o tamanho do estame e a curvatura do filete, sendo que os estames maiores possuem filetes mais retos (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Geralmente, existe uma relação entre a forma e o tamanho dos estames nas flores que apresentam dimorfismo estaminal (VELOSO *et al.*, 2018; TELLES *et al.*, 2020). Essa relação reflete uma divisão de trabalho entre os estames, principalmente ao promover a deposição diferencial dos grãos de pólen no corpo do polinizador (VALLEJO-MARÍN *et al.*, 2009; LUO *et al.*, 2008). Comumente, os estames maiores depositam os grãos de pólen nos chamados locais seguros (*safe sites*) — regiões menos acessíveis às abelhas durante a coleta do pólen pelo corpo (*grooming*) (KOCH, LUNAU e WESTER, 2017; MARCELO *et al.*, 2022). No entanto, não encontramos diferença na liberação dos grãos de pólen entre os diferentes verticilos, o que difere de resultados previamente encontrados em outros estudos (BRITO *et al.*, 2021). Essa discrepância pode estar relacionada ao tempo de vibração utilizado neste estudo, que não foi prolongado. Um mecanismo rigoroso de liberação, como o das anteras poricidas, pode resultar na quantidade de pólen liberado em resposta à abundância de polinizadores (HARDER e BARCLAY, 1994; HARDER e WILSON, 1994). Isso sugere que, em locais com limitação de polinizadores, as anteras podem liberar uma quantidade semelhante de pólen por ambas as funções — alimentação e polinização — em uma única visita. Em ambientes com maior abundância de polinizadores, contudo, as anteras maiores possivelmente liberam mais pólen. Além da abundância de polinizadores, a liberação pode também estar relacionada à eficiência do polinizador. *Pleroma granulorum* é visitada por abelhas de grande porte (BRITO *et al.*, 2021), conhecidas por sua eficiência na polinização (MESQUITA-NETO, COSTA e SCHLINDWEIN, 2017). Embora ambos os verticilos liberem quantidades semelhantes de pólen, isso pode não representar um custo significativo para a flor, desde que os polinizadores transportem eficientemente os grãos até o estigma de plantas coespecíficas. Portanto, sugerimos que o formato da flor e o posicionamento diferencial dos estames possam estar relacionados ao acoplamento com o corpo da abelha. Assim, embora a liberação de pólen seja semelhante em quantidade entre os verticilos, a deposição do pólen pode ocorrer em diferentes partes do corpo do polinizador, garantindo que os grãos de pólen cheguem ao estigma de uma outra flor (VALLEJO-MARÍN *et al.*, 2009; MESQUITA-NETO, COSTA e SCHLINDWEIN, 2017; TELLES *et al.*, 2020). Estudos futuros podem comparar a eficiência da polinização em flores com diferentes arquiteturas de estames, mas com quantidades de pólen liberadas semelhantes.

Dessa forma, seria possível investigar se a flor busca garantir o sucesso reprodutivo por meio do investimento tanto em quantidade quanto na liberação de pólen, ou ainda pela arquitetura floral, em função do tamanho e comportamento do polinizador.

Mesmo que nossos resultados mostrem que a área do poro é um fator importante na liberação de pólen, não evidenciamos diferenças entre as anteras dos diferentes ciclos. Estudos teóricos também sugeriram a importância do tamanho do poro na liberação de pólen (BUCHMANN e HURLEY, 1978; BORIN *et al.*, 2024). No entanto, esses modelos assumem a forma da antera como um paralelepípedo retangular, enquanto as anteras de *Pleroma granulatum* apresentam um formato falciforme. Assim, a precisão do modelo biofísico atual em prever a liberação de pólen pode variar conforme a morfologia das anteras. Em outro estudo com Melastomataceae, verificou-se que as flores de *Conostegia subcrustulata* aumentavam significativamente o tamanho dos poros ao longo da antese; porém, esse aumento não influenciou a liberação de pólen (DELLINGER *et al.*, 2019). Diferentemente, no mesmo estudo, os estames pequenos de *Adelobotrys adscendens*, que apresentavam maior área de poro, liberaram mais grãos de pólen em comparação com estames maiores com menor área de poro (DELLINGER *et al.*, 2019). Usando flores de *Solanum* (Solanaceae) como modelo, também não foi observado efeito do tamanho do poro sobre a liberação de pólen (KEMP e VALLEJO-MARÍN, 2021). Embora as flores de *Pleroma granulatum* apresentem um tamanho ideal de poro para a liberação dos grãos de pólen, o fato de que poros maiores não liberaram uma quantidade significativamente maior de pólen é um resultado complexo de interpretar. Possivelmente, a forma como a vibração é transmitida desempenha um papel importante nesse processo.

A transmissão da vibração da abelha para a flor é um fator essencial que pode afetar a liberação dos grãos de pólen (BUCHMANN e HURLEY, 1978). As propriedades físicas da flor, o comportamento de mordida da abelha nos estames e a arquitetura dos estames (fusionados ou livres) têm um grande impacto na transmissão da vibração (BRITO *et al.*, 2020; NEVARD *et al.*, 2021; VALLEJO-MARÍN; NUNES; RUSSELL, 2022; WOODROW *et al.*, 2024). Embora a frequência geralmente se mantenha constante ao longo dessa transmissão, a amplitude varia, podendo até mesmo se intensificar (BRITO *et al.*, 2020; NEVARD *et al.*, 2021). Sabe-se que a amplitude é uma variável relevante para explicar a liberação do pólen (DE LUCA *et al.*, 2013; KEMP e VALLEJO-MARÍN, 2021). Neste estudo, asseguramo-nos de usar a mesma amplitude e posição nos estames para aplicar a vibração. Portanto, é possível que as propriedades materiais intrínsecas dos diferentes estames de *P. granulatum* (a estrutura da

superfície interna da antera, por exemplo) tenham influenciado a transmissão da amplitude e, consequentemente, a liberação do pólen. Além disso, estames livres e fusionados respondem à vibração de maneira distinta (NEVARD *et al.*, 2021). Quando livres, estames maiores experimentam uma amplitude maior do que estames menores. Conforme observado nos trabalhos com *Solanum*, seria esperado também para essa espécie, que anteras maiores experimentassem amplitudes maiores e assim liberassem mais pólen. Porém, mesmo que a espécie também possua estames livres, a morfologia das flores é bem distinta de *Solanum*. Apesar dessas diferenças estruturais, se os estames de *P. granulatum* experimentam vibrações mais intensas (uma amplitude maior), isso provavelmente resultaria em uma variação na liberação de grãos de pólen. Considerando a grande diversidade estrutural dos estames nas Melastomataceae (KOPPER *et al.*, 2024), é esperado encontrar uma alta variação na maneira como a vibração é transmitida. Isso poderia explicar por que DELLINGER *et al.* (2019) observaram um efeito do tamanho do poro em uma espécie, mas não em outra, a forma dos estames nas diferentes espécies possivelmente influenciou essa resposta.

5. CONCLUSÃO

Este estudo aprofundou a análise dos atributos morfológicos dos estames de *P. granulatum* e suas implicações para a liberação de pólen em flores polinizadas por vibração. Embora pesquisas anteriores já tenham investigado a dinâmica de liberação de pólen em espécies de Melastomataceae, esta foi a primeira vez que os parâmetros de vibração foram controlados para avaliar a influência de características específicas dos estames. Nossos resultados sugerem que a área do poro é um fator importante para o controle da saída de pólen, embora haja evidências de um tamanho de poro ideal, revelando a complexidade desse mecanismo de liberação do pólen. Futuros estudos poderão explorar de forma mais abrangente a interação entre as propriedades vibratórias e as características morfológicas dos estames em diferentes espécies de Melastomataceae, contribuindo para o entendimento da evolução dos mecanismos de polinização nessas plantas.

6. REFERÊNCIAS

ADAMS, D.; COLLYER, M.; KALIONTZOPOULOU, A.; BAKEN, E. Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 4.0.8, 2024. Disponível em: <https://cran.r-project.org/package=geomorph>. Acesso em: 3 nov. 2024.

- ARROYO-CORREA, B.; BEATTIE, C.; VALLEJO-MARÍN, M.** Bee and floral traits affect the characteristics of the vibrations experienced by flowers during buzz pollination. *Journal of Experimental Biology*, v. 222, n. 4, p. jeb198176, 2019.
- BOCHORNY, T.; BACCI, L. F.; DELLINGER, A. S.; MICHELANGELI, F. A.; GOLDENBERG, R.; BRITO, V. D.** Connective appendages in *Huberia bradeana* (Melastomataceae) affect pollen release during buzz pollination. *Plant Biology*, v. 23, n. 4, p. 556-563, 2021.
- BORIN, D.; DE BRITO, V. L. G.; LEONEL, E. D.; HANSEN, M.** Buzz pollination: A theoretical analysis via scaling invariance. *Physical Review E*, v. 110, n. 5, p. 054201, 2024.
- BROOKS, M. E.; KRISTENSEN, K.; VAN BENTHEM, K. J.; MAGNUSSON, A.; BERG, C. W.; NIELSEN, A.; SKAUG, H. J.; MAECHLER, M.; BOLKER, B. M.** glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal*, v. 9, n. 2, p. 378–400, 2017. DOI: 10.32614/RJ-2017-066.
- BRITO, V. L. G.; PINHEIRO, M.; SAZIMA, M.** *Sophora tomentosa* e *Crotalaria vitellina* (Fabaceae): biologia reprodutiva e interações com abelhas na restinga de Ubatuba, São Paulo. *Biota Neotropica*, 2010.
- BRITO, V. L. G.; NUNES, C. E. P.; RESENDE, C. R.; MONTEALEGRE-ZAPATA, F.; VALLEJO-MARÍN, M.** Biomechanical properties of a buzz-pollinated flower. *Royal Society Open Science*, v. 7, n. 9, p. 201010, 2020.
- BRITO, V. L. G.; LEITE, F. B.; JORGE, L. R.; SAZIMA, M.** Distinct pollen release dynamics between stamens generate division of labour in pollen flowers of two *Pleroma* species (Melastomataceae). *Flora*, v. 285, p. 151961, 2021.
- BUCHMANN, S. L.; HURLEY, J. P.** A biophysical model for buzz pollination in angiosperms. *Journal of Theoretical Biology*, v. 72, n. 4, p. 639-657, 1978.
- CARDINAL, S.; BUCHMANN, S. L.; RUSSELL, A. L.** The evolution of floral sonication, a pollen foraging behavior used by bees (*Anthophila*). *Evolution*, v. 72, n. 3, p. 590-600, 2018.
- CARDOSO, J. C. F.; VIANA, M. L.; MATIAS, R.; FURTADO, M. T.; CAETANO, A. P. D. S.; CONSOLARO, H.; BRITO, V. L. G. D.** Towards a unified terminology for angiosperm reproductive systems. *Acta Botanica Brasilica*, v. 32, n. 3, p. 329-348, 2018.

CHITTKA, L.; THOMSON, J. D. (Eds.) *Cognitive ecology of pollination: animal behaviour and floral evolution*. Cambridge University Press, 2001.

DARWIN, C. *The different forms of flowers on plants of the same species*. John Murray, 1877.

DARWIN, F. The botanical work of Darwin. *Annals of Botany*, v. 13, n. 52, p. ix-xix, 1899.

DE LUCA, P. A.; VALLEJO-MARÍN, M. What's the 'buzz' about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 16, n. 4, p. 429-435, 2013.

DE LUCA, P. A.; BUSSIÈRE, L. F.; SOUTO-VILAROS, D.; GOULSON, D.; MASON, A. C.; VALLEJO-MARÍN, M. Variability in bumblebee pollination buzzes affects the quantity of pollen released from flowers. *Oecologia*, v. 172, n. 3, p. 805-816, 2013.

DELLINGER, A. S.; PÖLLABAUER, L.; LORETI, M.; CZURDA, J.; SCHÖNENBERGER, J. Testing functional hypotheses on poricidal anther dehiscence and heteranthery in buzz-pollinated flowers. *Acta ZooBot Austria*, v. 156, p. 197-214, 2019.

ENDRESS, P. K. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, 1996.

FOX, J.; WEISBERG, S. *An R Companion to Applied Regression*. 3. ed. Thousand Oaks CA: Sage, 2019. Disponível em: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/index.html>. Acesso em: 3 nov. 2024.

FOX, J.; WEISBERG, S. *An R Companion to Applied Regression*. 3. ed. Thousand Oaks CA: Sage, 2019. Disponível em: <https://www.john-fox.ca/Companion/>. Acesso em: 3 nov. 2024.

HARTIG, F. DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.4.7, 2024. Disponível em: <https://github.com/florianhartig/dharma>. Acesso em: 3 nov. 2024.

HARDER, L. D.; BARCLAY, R. M. R. The functional significance of poricidal anthers and buzz pollination: controlled pollen removal from *Dodecatheon*. *Functional Ecology*, p. 509-517, 1994.

HARDER, L. D.; WILSON, W. G. Floral evolution and male reproductive success: optimal dispensing schedules for pollen dispersal by animal-pollinated plants. *Evolutionary Ecology*, v. 8, p. 542-559, 1994.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T.; WIENS, J. J. Why are there so many flowering plants? A multi-scale analysis of plant diversification, 2019.

LENTH, R. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.10.5, 2024. Disponível em: <https://rvlenth.github.io/emmeans/>. Acesso em: 3 nov. 2024.

LÜDECKE, D. ggeffects: Tidy Data Frames of Marginal Effects from Regression Models. *Journal of Open Source Software*, v. 3, n. 26, p. 772, 2018. DOI: 10.21105/joss.00772.

KEMP, J. E.; VALLEJO-MARÍN, M. Pollen dispensing schedules in buzz-pollinated plants: experimental comparison of species with contrasting floral morphologies. *American Journal of Botany*, v. 108, n. 6, p. 993-1005, 2021.

KING, M. J. Buzz foraging mechanism of bumble bees. *Journal of Apicultural Research*, v. 32, n. 1, p. 41-49, 1993.

KING, M. J.; BUCHMANN, S. L. Sonication dispensing of pollen from *Solanum laciniatum* flowers. *Functional Ecology*, p. 449-456, 1996.

KLEIN, A. M.; VAISSIERE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2006.

KOCH, L.; LUNAU, K.; WESTER, P. To be on the safe site—Ungroomed spots on the bee's body and their importance for pollination. *PLoS One*, v. 12, n. 9, p. e0182522, 2017.

LAND, R.; ARNOLD, S. J. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, v. 37, n. 6, p. 1210-1226, 1983.

LUO, Z. L.; GU, L.; ZHANG, D. X. Intrafloral differentiation of stamens in heterantherous flowers. *Journal of Systematics and Evolution*, v. 47, n. 1, p. 43-56, 2009.

- LUO, Z.; ZHANG, D.; RENNER, S. S.** Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin's division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology*, v. 22, n. 5, p. 794-800, 2008.
- MARCELO, V. G.; MARQUITTI, F. M. D.; VALLEJO-MARÍN, M.; BRITO, V. L. G.** Pollinator grooming behavior alters pollen landscapes on bees' bodies and increases pollen carryover to other flowers. *bioRxiv*, 2022-07, 2022.
- MAZEROLLE, M. J.** AICcmodavg: Model selection and multimodel inference based on (Q)AIC(c). R package version 2.3.3, 2023. Disponível em: <https://cran.r-project.org/package=AICcmodavg>. Acesso em: 3 nov. 2024.
- MESQUITA-NETO, J. N.; COSTA, B. K. P.; SCHLINDWEIN, C.** Heteranthery as a solution to the demand for pollen as food and for pollination—Legitimate flower visitors reject flowers without feeding anthers. *Plant Biology*, v. 19, n. 6, p. 942-950, 2017.
- MELO, L. R.; VASCONCELOS, T.; REGINATO, M.; CAETANO, A. P. S.; BRITO, V. L. G.** Evolution of stamen dimetrisism in Melastomataceae, a large radiation of pollen flowers. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, v. 48, p. 125589, 2021.
- MELO, L. R.; VASCONCELOS, T. N.; CAETANO, A. P. S.; BRITO, V. L.** Stamen diversity in Melastomataceae: morphology, color, and function. In: *Systematics, Evolution, and Ecology of Melastomataceae*. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 609-628.
- MICHENER, C. D.** *The bees of the world*. Vol. 1. JHU Press, 2000.
- MÜLLER, F.** Two kinds of stamens with different functions in the same flower. *Nature*, v. 27, n. 694, p. 364, 1883.
- MÜLLER, H.** Two kinds of stamens with different functions in the same flower. *Nature*, v. 24, n. 614, p. 307, 1881.
- MÜLLER, H.** Two kinds of stamens with different functions in the same flower. *Nature*, v. 27, n. 680, p. 30, 1882.
- NEVARD, L.; RUSSELL, A. L.; FOORD, K.; VALLEJO-MARÍN, M.** Transmission of bee-like vibrations in buzz-pollinated plants with different stamen architectures. *Scientific Reports*, v. 11, n. 1, p. 13541, 2021.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, v. 120, n. 3, p. 321-326, 2011.

OLIVEIRA, L. C.; TEIXIDO, A. L.; TREVIZAN, R.; BRITO, V. L. Bee-mediated selection favors floral sex specialization in a heterantherous species: strategies to solve the pollen dilemma. *Plants*, v. 9, n. 12, p. 1685, 2020.

PRITCHARD, D. J.; VALLEJO-MARÍN, M. Floral vibrations by buzz-pollinating bees achieve higher frequency, velocity and acceleration than flight and defence vibrations. *Journal of Experimental Biology*, v. 223, n. 11, p. jeb220541, 2020.

R CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2013. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 31 out. 2024.

RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. (Eds.) *Biologia da polinização*. Projecto Cultural, 2014.

RENNER, S. S. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, p. 496-518, 1989.

ROSA, R. L. S. C. Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *Sociedade e Natureza*, v. 3, p. 91-108, 1991.

ROSI-DENADAI, C. A.; ARAÚJO, P. C. S.; CAMPOS, L. A. O.; COSME JR, L.; GUEDES, R. N. C. Buzz-pollination in Neotropical bees: genus-dependent frequencies and lack of optimal frequency for pollen release. *Insect Science*, v. 27, n. 1, p. 133-142, 2020.

SAAB, G. D. S.; MANSANO, V. D. F.; NOGUEIRA, A.; MAIA, I. C.; BERGAMO, P. J.; PAULINO, J. V. A sophisticated case of division of labour in the trimorphic stamens of the *Cassia fistula* (Leguminosae) flower. *AoB Plants*, v. 13, n. 5, p. plab054, 2021.

SUEUR, J. *Sound Analysis and Synthesis with R*. The Netherlands: Springer, 2018.

STEPHENS, R. E.; GALLAGHER, R. V.; DUN, L.; CORNWELL, W.; SAUQUET, H. Insect pollination for most of angiosperm evolutionary history. *New Phytologist*, v. 240, n. 2, p. 880-891, 2023.

SCHLINDWEIN, C.; WITTMANN, D.; MARTINS, C. F.; HAMM, A.; SIQUEIRA, J. A.; SCHIFFLER, D.; MACHADO, I. C. Pollination of *Campanula rapunculus* L.

(Campanulaceae): How much pollen flows into pollination and into reproduction of oligolectic pollinators? *Plant Systematics and Evolution*, v. 250, n. 3-4, p. 147-156, 2005.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III*. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

SOLÍS-MONTERO, L.; VALLEJO-MARÍN, M. Does the morphological fit between flowers and pollinators affect pollen deposition? An experimental test in a buzz-pollinated species with anther dimorphism. *Ecology and Evolution*, v. 7, n. 8, p. 2706-2715, 2017.

THORP, R. W. The collection of pollen by bees. In: *Pollen and pollination*. Vienna: Springer, 2000. p. 211-223.

VELLOSO, M. D. S. C.; BRITO, V. L. G. D.; CAETANO, A. P. S.; ROMERO, R. Anther specializations related to the division of labor in *Microlicia cordata* (Spreng.) Cham. (Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica*, v. 32, p. 349-358, 2018.

VALLEJO-MARÍN, M.; DA SILVA, E. M.; SARGENT, R. D.; BARRETT, S. C. Trait correlates and functional significance of heteranthy in flowering plants. *New Phytologist*, v. 188, n. 2, p. 418-425, 2010.

VALLEJO-MARÍN, M.; MANSON, J. S.; THOMSON, J. D.; BARRETT, S. C. Division of labour within flowers: heteranthy, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 22, n. 4, p. 828-839, 2009.

VALLEJO-MARÍN, M. Buzz pollination: studying bee vibrations on flowers. *New Phytologist*, v. 224, n. 3, p. 1068-1074, 2019.

VALLEJO-MARÍN, M.; NUNES, C. E. P.; RUSSELL, A. L. Anther cones increase pollen release in buzz-pollinated *Solanum* flowers. *Evolution*, 2022.

VOGEL, S. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. *The pollination of flowers by insects*, 1978.

WESTERKAMP, C. Flowers and bees are competitors—not partners. Towards a new understanding of complexity in specialised bee flowers. In: *VII International Symposium on Pollination*, 437, 1996. p. 71-74.

WILLMER, P. *Pollination and floral ecology*. Princeton: Princeton University Press, 2011.

WICKHAM, H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. New York: Springer-Verlag, 2016. ISBN 978-3-319-24277-4. Disponível em: <https://ggplot2.tidyverse.org>. Acesso em: 3 nov. 2024.

WICKHAM, H.; FRANÇOIS, R.; HENRY, L.; MÜLLER, K.; VAUGHAN, D. dplyr: A Grammar of Data Manipulation. R package version 1.1.4, 2023. Disponível em: <https://github.com/tidyverse/dplyr>. Acesso em: 3 nov. 2024.

WOODROW, C.; JAFFERIS, N.; KANG, Y.; VALLEJO-MARÍN, M. Buzz-pollinating bees deliver thoracic vibrations to flowers through periodic biting. *Current Biology*, 2024.

APÊNDICE A: LISTA DE FIGURAS E TABELAS DOS RESULTADOS DAS ANÁLISES MORFOMÉTRICAS E DA LIBERAÇÃO DE PÓLEN:

Figura A1 – Marcos e semi-marcos

Figura A2 – Correlograma

Tabela A1 - Resultados da análise de variância (ANOVA) mostrando se os atributos morfológicos interferem na probabilidade de a antera liberar pólen

Tabela A2 - Resultados da seleção dos modelos segundo o critério de Akaike

Tabela A3 - Resultados da análise de variância (ANOVA) mostrando se a quantidade de pólen liberado estava relacionada à área do poro e ao tamanho do estame

Figura A3 – Estames representando os valores de PC1