



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Botânica

Joicy Martins Moraes

Evolução e significado funcional da Enantiostilia
monomórfica em Vochysiaceae

Brasília
Janeiro/2018

Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Botânica

**Evolução e significado funcional da Enantiostilia
monomórfica em Vochysiaceae**

JOICY MARTINS MORAIS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de Brasília, como requisito à obtenção do título de Doutor, sob a orientação do Dr. Hélder Nagai Consolaro e co-orientação da Dra. Victoria Ferrero.

Brasília
Janeiro/2018

*“Eu sou aquela mulher
a quem o tempo
muito ensinou.
Ensinou a amar a vida.
Não desistir da luta.
Recomeçar na derrota.
Renunciar a palavras e pensamentos negativos.
Acreditar nos valores humanos.
Ser otimista.”*

Cora Coralina

Banca Examinadora

Dr. Hélder Nagai Consolaro – Presidente

Universidade Federal de Goiás

Dra. Carolyn Elinore Barnes Proença– titular interno

Universidade de Brasília

Dra. Francismeire Jane Telles da Silva– titular externo

Universidade Federal de Uberlândia

Dr. Natan Messias Almeida – titular externo

Universidade Estadual de Alagoas

Dr. Vinícius Lourenço Garcia de Brito – suplente externo

Universidade Federal de Uberlândia

Agradecimentos

Um trabalho de mais de quatro anos certamente não se faz sozinho. Mas bem antes disso se inicia minha gratidão. Primeiro às pessoas que sempre me apóiam em meus planos e não me deixam desistir quando surge o cansaço no caminho. Obrigada à minha mãe Célia, minha irmã Erika, meu cunhado Hebert e minhas duas alegrias em forma de gente, meus sobrinhos/afilhados Artur e Felipe! A vocês agradeço pelo apoio emocional, financeiro e apoio em coletas. Obrigada por se aventurarem comigo em tantos momentos que eu não podia contar com mais ninguém!

Minha gratidão aos meus orientadores que me auxiliaram nessa jornada Hélder Consolaro e Victoria Ferrero. Peço licença para fazer um agradecimento especial à Vicky. Minhas palavras são insuficientes para expressar toda a gratidão e respeito que sinto por essa pessoa que me ajudou em todos os momentos da minha tese. Me socorreu quando os problemas surgiram e me deu suporte para discutir meus dados quando poucos queriam falar de enantioestereoisomeria. Vicky, em muitos momentos não desisti porque não podia te deixar na mão. Você fez muito mais que o necessário por mim. OBRIGADA!

Agradeço aos meus eternos amigos Giselle Lopes e Edivaldo Barbosa. Amigos iguais a vocês eu não encontro nunca mais. Agradeço pelas tantas ajudas que me deram, por abrirem as portas de suas casas para mim em inúmeras oportunidades, por coletarem comigo (eu sei que vocês adoram fazer focal kkkkkk), por me ajudarem com formatação de fotos, com análises de dados, por me socorrerem nos momentos mais difíceis e por serem esses amigos tão queridos e parceiros que sempre foram nos últimos quase 15 anos! Obrigada!

Agradeço imensamente aos queridos amigos Túlio Freitas e Joice Paz por tudo que se dispuseram a passar junto comigo. Obrigada pelos valorosos auxílios em campo, pelas hospedagens em suas casas, por serem alguns dos poucos que disponibilizaram tempo e vontade de discutir enantioestereoisomeria comigo. Obrigada por todas as viagens, alegrias, tristezas e decepções que pudemos dividir entre nós e diminuir o peso que tivemos que carregar. Obrigada!

Obrigada de coração às queridas Lidiane e Luísa que me aceitaram de forma tão gentil em sua casa e me deixaram ser parte da melhor república que poderia ter encontrado, a República do Chopp (Choppinho é o gato mais fofo do mundo que me fazia dormir com aquele ronronado gostoso...)! Obrigada por serem como uma família

pra mim dividindo as alegrias do dia a dia e apoiando nos dias ruins. Obrigada por me fazerem me sentir em casa! Lidiane você é uma pessoa admirável! Obrigada por ter aberto as portas da sua casa e me receber quando eu mais precisei.

Obrigada à quem se dispôs a ir comigo à campo. Vanessa Marcelo eu não teria conseguido sem sua ajuda, Cellini obrigada por dedicar seu tempo à mim, inclusive dirigindo quando minha saúde não permitia. Mãe, Erika, Hebert, Artur, Felipe, Vicky, Hélder, Giselle, Joice, Túlio, Edivaldo, Paola, Vanessa, Jessyca, Cellini, Raphael, Marco Túlio, Bené e espero não ter esquecido ninguém, hehehe, obrigada por me ajudarem nas coletas ao longo desses 4 anos. Obrigada aos membros do Laboratório de Biologia Reprodutiva de Plantas de Catalão por todas as conversas amistosas, apoio e convivência no período em que estive aí.

Obrigada à todos que viajaram comigo aos inúmeros Congressos, Simpósios e demais eventos de botânica, especialmente minhas sempre companheiras Giselle, Cellini e Lorena. Meninas, com vocês eu vou a qualquer lugar que me chamarem!!!

Agradeço aos amigos que conviveram e ajudaram no dia a dia. Obrigada querido amigo Daniel que voltou pra Bolívia, mas me deixou alguns ensinamentos que uso até hoje. Obrigada por me ensinar com sua gentileza que apenas eu sou responsável pelas minhas conquistas e que eu tenho que correr atrás. Foi um ótimo ensinamento que me ajudou a chegar ao fim do doutorado! Meu querido amigo Jair, obrigada pelas boas conversas, pelo apoio cotidiano, pela gentileza, enfim, por sua amizade. Minha querida amiga Jéssika, como eu gosto de você!!! Obrigada pelo seu profissionalismo em nos auxiliar no laboratório de anatomia e fico ainda mais agradecida por você ter me permitido me tornar sua amiga. Você é tão gentil, sincera e educada. É um prazer conviver com você. Obrigada aos queridos Marina e Danilo, que foram morar longe e deixaram saudades na UnB. Agradeço aos amigos do dia a dia, das disciplinas, dos fins de semana estudando. Obrigada Wagner (que não é da botânica, mas é quase como se fosse), Marlon, André Moreira, Maria Rosa, Formiga e tantos que dividiram com a gente a salinha dos alunos. O-bri-ga-da!

Minhas queridas Lorena, Cellini e Helivania, obrigada pelo grupinho do almoço que nós nos tornamos nos últimos meses. Vocês ajudam a aliviar o peso do dia a dia, a conversar sobre a vida, os planos, as esperanças e frustrações. Obrigada Lorena por toda a ajuda que você me deu, sobretudo nessa reta final, foi muito valiosa. Em breve seremos o grupo das doutoras! Estamos quase lá!

Agradeço imensamente às pessoas queridas que sempre me ajudaram em minha caminhada. À querida Edivani Franceschinelli o meu muito obrigada, sabendo que essas palavras são poucas para te agradecer por tudo que você já fez por mim. Obrigada por me deixar fazer parte do seu Laboratório de Biologia Reprodutiva de Plantas e poder utilizar os equipamentos e o espaço físico. Obrigada por sua amizade de anos e pelas boas conversas políticas ou não, rs.

Agradeço aos queridos professores da botânica da UnB que sempre foram tão solícitos em dividirem seu conhecimento com todos nós, seja nas disciplinas ou no dia a dia. Agradeço em especial à professora Cassia Munhoz que foi a melhor coordenadora que o PPG Botânica poderia ter. Te agradeço como aluna e agradeço de forma pessoal por tudo que você fez por mim. Obrigada à professora Carol Proença por sempre me perguntar como vai o meu trabalho, me falar de algum artigo que possa me ajudar, me convidar pra aprender um pouco sobre o BRAHMS, pelo convívio no dia a dia. Obrigada! Obrigada professores Micheline, Paulo Câmara, Sueli, Carol, Cassia, Julia, Regina, Dulce, Graça, todos com quem eu aprendi em alguma das inspiradoras disciplinas que eu participei.

Minha gratidão às queridas Sarah e Silvia que sempre foram tão solícitas em ajudar a resolver os “pepinos” burocráticos da secretaria. Obrigada flores!!!! Obrigada aos técnicos de laboratório Marina, Jéssika e André pela prestatividade e mais uma vez gentileza com que vocês realizam seu trabalho e facilitam o nosso.

Agradeço aos representantes dos locais onde coletei e fui muito bem recebida. No IBGE agradeço ao carinho e amizade dos queridos Betânia, Caius, Maura e todos que nos recebem com um sorriso no rosto e vontade de ajudar. Agradeço especialmente ao Leonardo Bergamini que me auxiliou nas análises estatísticas de 2 dos meus capítulos se envolvendo para melhorar os futuros artigos e se tornando um dos nossos co-autores. Obrigada Leo. Obrigada ao Sr. Jaime Sautchuk da RPPN Linda Serra dos Topázios que sempre foi muito gentil em nos permitir realizar parte do nosso trabalho em sua propriedade.

Obrigada às professoras Maria Helena, Letícia, Dalva e Moemy do laboratório de anatomia vegetal da Universidade Federal de Goiás por me permitirem utilizar a estrutura do seu laboratório para fotografar minhas lâminas de pólen. Muito obrigada ao professor Antônio Camilo da Zoologia UnB que gentilmente me ajudou a identificar meus insetos e os recebeu na Coleção Entomológica da UnB. Agradeço de coração à querida Vanessa Rivera pela ajuda nas filogenias do meu primeiro capítulo. Obrigada

por todas as reuniões e trocas de informação, obrigada por entrar de cabeça nesse meu trabalho e ter se tornado também uma das co-autoras desse trabalho.

Agradeço às antigas amigas que se renovaram e às novas amigas que o doutorado me trouxe. Sou realmente uma pessoa de muita sorte por encontrar pessoas tão especiais em minha jornada.

Meu agradecimento à Universidade de Brasília pela oportunidade de ser parte dessa Instituição que eu tanto admiro, por poder ter utilizado a estrutura física e de pessoal, por ter me permitido estar em uma das principais instituições de ensino do país. Eu amo cada cantinho da UnB, especialmente os adoráveis jardins do Instituto de Biologia, minha casa! Obrigada à CAPES pela Bolsa de estudos concedida e que me permitiu me dedicar com exclusividade à minha formação acadêmica.

Obrigada aos gentis membros da Banca Examinadora Carol, Meire, Natan e Vinícius que contribuíram com como meu trabalho por meio de suas perguntas, comentários e sugestões!

Obrigada à todos que me acompanharam e torceram por mim nessa jornada. Contem comigo e sucesso à todos nós!

Sumário

Resumo -----	I
Abstract-----	II
I. Introdução geral-----	IIII
Literatura citada -----	VIII
Capítulo I -----	13
Ocorrência de enantiostilia entre as Angiospermas. -----	13
1. Introdução -----	13
2. Material e Métodos-----	15
3. Resultados -----	17
4. Discussão -----	21
5. Literatura citada-----	27
Capítulo II -----	54
Reproductive biology and pollinators in two enantiostylous <i>Qualea</i> species (Vochysiaceae) in the Brazilian Cerrado -----	54
1. Introdução -----	55
2. Material e métodos -----	56
3. Resultados -----	60
4. Discussão -----	63
5. Literatura citada-----	67
Capítulo III -----	81
Eficácia da reciprocidade floral no fluxo de pólen na enantiostilia: o caso de <i>Qualea</i> sp. (Vochysiaceae). -----	81
1. Introdução -----	81
2. Material e métodos -----	83
3. Resultados -----	90
4. Discussão -----	98
5. Literatura citada-----	103
Conclusão -----	113

Índice de Figuras

	Pág.
Introdução geral	
Figura 1. Representação da enantioestilia. A – Enantioestilia monomórfica - flores de morfos opostos ocorrendo no mesmo ramo de um indivíduo. L-left (esquerdo); R-right (direito); B – Enantioestilia monomórfica - flores de apenas um morfo em ramos separados de um mesmo indivíduo; C – Enantioestilia dimórfica - flores de apenas um morfo ocorrendo em cada indivíduo. Modificada de Barrett (2002a).	IV
Figura 2. Inflorescências de <i>Qualea</i> . Esq. <i>Qualea parviflora</i> ; dir <i>Qualea multiflora</i> . Nesta última é mostrada a enantioestilia monomórfica com a ocorrência dos dois morfos no mesmo ramo.-----	VI
Capítulo 1	
Figura 1. Ocorrências de enantioestilia entre as ordens de Angiospermas. Árvore gerada com sequências do GenBank utilizando os marcadores <i>rbcl</i> e <i>matK</i> . Retângulos rosa indicam ordens com enantioestilia monomórfica. Retângulos vermelhos indicam ordens com enantioestilia monomórfica e dimórfica.-----	18
Figura 2. Reconstrução de carácter ancestral no grupo Commelinids + Asparagales. Árvore gerada com sequências do GenBank utilizando os marcadores <i>rbcl</i> e <i>matK</i> . Terminais na cor branca representam ausência de enantioestilia, terminais na cor verde representam presença de enantioestilia monomórfica e terminais na cor preta representam presença de enantioestilia dimórfica. As probabilidades apresentadas nos retângulos referem-se à probabilidade ancestral entre uma espécie enantioestílica dimórfica e uma monomórfica, as demais probabilidades estão apresentadas na Tabela 1-----	19
Figura 3. Anexo 4. Reconstrução filogenética das famílias das ordens Commelinids + Asparagales que apresentam espécies enantioestílicas com o suporte dos ramos. Árvore bayesiana gerada pelo programa MrBayes.-----	52
Capítulo 2	
Figure 1. Location map of <i>Qualea parviflora</i> (square) and <i>Qualea multiflora</i> (star) studied populations in Brazil. A) Brazilian map showing Goiás State (GO) and the Federal District (DF) colored in gray. B) Detail of Goiás State and Federal District and C) situation of populations in the territory of Goiás (GO) and Federal District (DF).-----	75
Figure 2. Nectar production (μl) in both floral morphs of A) <i>Q. parviflora</i> collected in Catalão/GO, and B) <i>Q. multiflora</i> collected in Pirenópolis/GO. C) Nectar concentration (%) measured in <i>Q. multiflora</i> collected in Pirenópolis/GO. R: right morph; L: left morph.-----	76

- Figure 3. Boxplots showing the amount of pollen grains in flowers of A) *Qualea parviflora* and B) *Q. multiflora* and the percentage of viable pollen grains in C) *Q. parviflora* and D) *Q. multiflora*. All flowers analysed were collected in Pirenópolis/GO. R: right morph; L: left morph. ----- 77
- Figure 4. Fruit set (number of fruits/flowers pollinated) after hand-pollinations in A) *Qualea parviflora* and B) *Q. multiflora* in the Cerrado. Hand pollinations were performed in one population for *Q. parviflora* and one for *Q. multiflora* and control and supplementation were performed in three populations in each *Qualea* species. Data is shown as mean values and SD.----- 78
- Figure 5. Visitation rates on flowers of *Q. parviflora*. A, C and E referred to visitations rates separated by insect/group of insects. B, D and F: total visitation rates by time in the populations. A and B: Cristalina population. C and D: Catalão population. E and F: Ermida Dom Bosco population. Group 1: *Bombus brevivillus*, *B. morio*, *B. pauloensis*, *Centris scopipes*, *Epicharis dejeani*, *E. bicolor*, *E. flava* and *E. analis*. Group 2: *Exomalopsis fulvofasciata* and *Epicharis xanthogastra*; *Xylocopa* spp.: *Xylocopa (Dasyxylocopa) sp.*, *X. grisescens*, *X. hirsutissima*, *X. suspecta* and *X. subcyana*.----- 79
- Figure 6. Visitation rates on flowers of *Q. multiflora*. A, C and E, are rates separated by insect/group of insects by time. B, D and F: total visitation rates by time. A and B: Cristalina population. C and D: Pirenópolis population. E and F: IBGE population. Group 1: *Bombus brevivillus*, *B. morio*, *B. pauloensis*, *Centris scopipes*, *Epicharis dejeani*, *E. bicolor*, *E. flava* e *E. analis*. Group 2: *Exomalopsis fulvofasciata* e *Epicharis xanthogastra*; *Xylocopa* spp.: *X. grisescens*, *X. hirsutissima* e *X. suspecta*----- 80

Capítulo 3

- Figura 3. Medidas tomadas para calcular a reciprocidade nas flores de *Qualea* sp. Traço horizontal branco corresponde à distância antera-eixo floral, estigma-eixo floral e antera-estigma. A linha tracejada vertical preta representa o eixo floral. Nas fotos, *Q. parviflora*.----- 84
- Figura 2. Posições de possível deposição de pólen (A) e Distância intertegular das abelhas (B). Cada lado é tocado pela antera de cada morfo. ----- 86
- Figura 3. Flores de *Q. parviflora* com pó fluorescente colocado sobre as anteras. A - Flor direita com pó fluorescente verde na antera; B - flor esquerda com pó fluorescente rosa na antera; C - flor com as peças florais reprodutivas unidas simulando a condição não enantioestílica com pó fluorescente azul; e D - flores simulando a condição não enantioestílica sem pó fluorescente (para serem

receptoras de pó)-----	87
Figuras 4. Distância entre as peças reprodutivas florais e o eixo floral em populações de <i>Qualea parviflora</i> e <i>Q. multiflora</i> . <i>Q. parviflora</i> : A – Distância antera-eixo floral; B – Distância estigma-eixo floral. <i>Q. multiflora</i> ; C – Distância antera-eixo floral; D – Distância estigma-eixo floral -----	91
Figura 5. Reciprocidade entre as peças florais reprodutivas e o eixo floral, de cada lado das flores, em populações de <i>Qualea parviflora</i> e <i>Q. multiflora</i> . <i>Q. parviflora</i> : A – Reciprocidade do lado direito (antera de flor esquerda e estigma de flor direita); B – Reciprocidade do lado esquerdo (antera de flor direita e estigma de flor esquerda). <i>Q. multiflora</i> ; C – Reciprocidade do lado direito (antera de flor esquerda e estigma de flor direita); D – Reciprocidade do lado esquerdo (antera de flor direita e estigma de flor esquerda) -----	92
Figura 6. Distância entre as peças reprodutivas florais, antera e estigma, em populações de <i>Qualea parviflora</i> e <i>Q. multiflora</i> . A – Distância antera-estigma em <i>Q. parviflora</i> ; B – Distância antera-estigma em <i>Q. multiflora</i> -----	93
Figura 7. Logaritmo do número de grãos de pólen em função da diferença entre a distância intertegular da abelha e a distância antera-estigma para A – <i>Q. parviflora</i> e B – <i>Q. multiflora</i> . A relação apresentada no gráfico é apenas ilustrativa e não leva em consideração a variância entre populações. ----- -----	94
Figura 8. Deposição de pólen nas diferentes partes do corpo das abelhas. A: deposição de pólen nas abelhas que visitaram <i>Q. parviflora</i> . B: Deposição de pólen no corpo das abelhas que visitaram <i>Q. multiflora</i> -----	95
Figura 9. Deposição de grãos de pólen nas diferentes partes do corpo dos visitantes florais de <i>Qualea parviflora</i> e <i>Q. multiflora</i> . Partes do corpo separadas em lateral, ventre e cabeça. Visitantes florais separados por grupos de insetos -----	96

Índice geral de Tabelas

	Pág.
Capítulo 1	
Tabela 1 Probabilidade da ocorrência dos caracteres ancestrais analisados para cada ramo	20
Tabela 2. Anexo 1. Espécies utilizadas para a reconstrução filogenética de Ordens contendo enantioestilia com os respectivos números de acesso no GenBank e os marcadores utilizados. -----	39
Tabela 3. Anexo 2. Espécies utilizadas para a reconstrução filogenética de Commelinids + Asparagales com os respectivos números de acesso no GenBank e os marcadores utilizados. Caracter representa 0: ausência de enantioestilia; 1: presença de enantioestilia monomórfica e 2: presença enantioestilia dimórfica.. -----	42
Tabela 4. Anexo 3. Estudos feitos sobre enantioestilia e quantidade de taxa representados. Alguns trabalhos mencionam a presença de enantioestilia em gêneros, sem especificar a espécie. Tipo de Enantioestilia: M – Monomórfica; D – Dimórfica. *enantioestilia monomórfica, mas abre uma flor por dia sendo funcionalmente dimórfica. **espécie com relato de enantioestilia monomórfica e dimórfica. A família Hyacinthaceae foi incluída em Asparagaceae no APG IV. -----	45
Capítulo 2	
Tabela 2. Proportion between right (R) and left (L) opened flowers in <i>Qualea parviflora</i> and <i>Q. multiflora</i> in each population and results from comparisons with expected proportions. Trace (-) refers to populations that were not studied.-----	71
Tabela 3. Comparison of quantity and viability of pollen grains between morphs of <i>Qualea parviflora</i> and <i>Q. multiflora</i> . R: right morph; L: left morph. -----	72
Tabela 4. Comparisons of fruit set after hand-pollination treatments compared to the controls in <i>Qualea parviflora</i> and <i>Q. multiflora</i> . Suppl: Supplementation; XenoOpo: xenogamy with pollen by opposite morph flower; Xeno R/L: xenogamy with pollen by same morph flower. Estimate mean difference between treatment and control.----	73
Tabela 5. S 1. Fruit set (as percentage) obtained after hand-pollination treatments for both morphs (R, right and L, left) in <i>Qualea parviflora</i> and <i>Q. multiflora</i> . Cont: flowers without bagging left for natural pollination; Suppl: unbagged, and supplemented with extra xenogamous pollen; Xeno R/R: xenogamy right flower pollinated by right flower pollen of another plant; Xeno R/L: xenogamy right flower pollinated by left flower pollen of another plant; Xeno L/L: xenogamy left flower pollinated by left flower pollen of another plant; Xeno L/R: xenogamy left flower pollinated by right flower pollen of another plant. (-) refers to treatments not available -----	74

Capítulo 3

Tabela 1. Transferência de pó fluorescente entre morfos florais dentro do mesmo indivíduo-----	97
Tabela 2. Anexo 1. Sumário dos resultados encontrados para os modelos de comparação na deposição de pólen nas diferentes partes do corpo dos insetos visitantes de populações de <i>Q. parviflora</i> e <i>Q. multiflora</i> separados por grupos de visitantes florais. Em negrito estão os resultados significativamente diferentes-----	107
Tabela 3. Anexo 2. Médias e desvio padrão da distância antera-eixo floral, distância estigma-eixo floral e distância antera-estigma em populações de <i>Q. parviflora</i> e <i>Q. multiflora</i> -----	108
Tabela 4. Anexo 3. Médias e desvio padrão da deposição de pólen no corpo dos insetos visitantes de <i>Q. parviflora</i> e <i>Q. multiflora</i> , separados por grupos de visitantes florais. 109	
Tabela 5. Anexo 4. Número de abelhas coletadas nas populações de <i>Q. parviflora</i> e <i>Q. multiflora</i> e a relação da distância intertegular dos insetos. Grupo se refere à forma que as abelhas foram agrupadas. Grupo 1: <i>Bombus brevivillus</i> , <i>B. morio</i> , <i>B. pauloensis</i> , <i>Centris scopipes</i> , <i>Epicharis dejeani</i> , <i>E. bicolor</i> , <i>E. Flava</i> e <i>E. analis</i> ; Grupo 2: <i>Xylocopa</i> spp; Grupo 3: <i>Centris aenea</i> ; Grupo 4: demais abelhas. Distância intertegular corresponde a variação da distância do menor e maior indivíduo coletado em cada espécie. Cat: Catalão/GO, Cris: Cristalina/GO, DB: Dom Bosco/DF, IBGE: IBGE/DF. Obs. Não incluímos as espécies de <i>Megachile</i> nas análises de deposição de pólen, pois essas abelhas tem como característica armazenar o pólen no ventre e a quantidade de pólen no ventre delas seria artificial e não fruto da deposição devido à morfologia floral.-----	110

RESUMO

A enantiostilia é um polimorfismo floral, no qual dentro da mesma espécie, existem duas formas florais que diferem na deflexão do estilete em relação ao eixo floral. No morfo direito o estilete está disposto à direita (e as anteras à esquerda, sendo recíprocas), no morfo esquerdo o estilete está disposto à esquerda (e as anteras à direita). A enantiostilia pode ser dimórfica, quando há apenas um morfo floral por indivíduo, ou monomórfica, quando ambos morfos florais ocorrem em um mesmo indivíduo. A funcionalidade da enantiostilia está relacionada com o fluxo de pólen entre indivíduos sendo mais claro esse fluxo na enantiostilia dimórfica, porém, a enantiostilia monomórfica é responsável por evitar autopolinização e diminuir ao menos pela metade a geitonogamia, já que flores de mesmo morfo dificilmente se polinizam, além de evitar que peças florais sejam danificadas durante a polinização, frequentemente por vibração. Após uma extensa revisão de publicações acerca da enantiostilia podemos afirmar que esta ocorre ao menos em 17 famílias distribuídas em 11 ordens, e que a enantiostilia monomórfica é prevalente em relação à dimórfica. Apenas 3 famílias de duas ordens possuem espécies enantiostílicas dimórficas sendo todas monocotiledôneas. Uma das famílias que apresentam grande ocorrência de enantiostilia, encontra-se no Cerrado brasileiro. A família Vochysiaceae apresentam enantiostilia nos gêneros *Qualea*, incluindo *Ruizterania*, *Callisthene*, *Erisma* e *Salvertia*, ocorrentes no Cerrado. *Qualea parviflora* e *Q. multiflora* apresentam grande ocorrência nos Cerrados do Brasil Central. Ambas apresentando enantiostilia monomórfica. Buscando estudar possíveis diferenças entre os morfos florais nessas espécies, investigamos a biologia floral e reprodutiva de ambas. Não encontramos diferenças entre morfos florais em nenhum aspecto reprodutivo dessas espécies, como proporção de flores entre morfos, oferta de recurso ao visitante floral - no caso néctar - quantidade e viabilidade de pólen e produção de frutos. Confirmamos ainda a presença de um sistema de incompatibilidade e enriquecemos o conhecimento acerca dos visitantes florais nas populações estudadas. Avaliamos também a funcionalidade da reciprocidade floral entre morfos e o papel do polinizador na transferência de pólen entre morfos florais. Aparentemente nas espécies de *Qualea parviflora* e *Q. multiflora* a enantiostilia é reforçada como uma estratégia para reduzir a chegada de autopólen/pólen geitonogâmico, reduzir os possíveis danos que podem ser causados por polinizadores durante a visitação e com a ajuda do sistema de incompatibilidade, pode evitar a autofecundação e diminuir a endogamia.

ABSTRACT

Enantiostyly is a floral polymorphism, in which within the same species, there are two floral forms that differ in the deflection of the style in relation to the floral axis. In the right morph the style is arranged to the right and the anthers to the left and in the left morph the style is arranged to the left and the anthers to the right. Enantiostyly is dimorphic when there is only one floral morph per individual and monomorphic when both floral morphs occur in the same individual. The function of enantiostyly is related to the promotion of cross pollination between individuals. This has been confirmed specially in dimorphic species. Monomorphic enantiostyly is also known to improve cross pollination compared to non-enantiostylous taxa, but also avoids self-pollination, reduces geitonogamy and prevents floral parts from being damaged during pollination, which is often performed by vibration. After an extensive review of publications on enantiostyly and a phylogenetic reconstruction, we found it occurs in at least 17 families of Angiosperms distributed in 11 orders being monomorphic enantiostyly prevalent to dimorphic. Dimorphic enantiostylous is only present in 3 families of two orders in the monocotyledons. Among the other families in which monomorphic enantiostyly is prevalent there is one with great occurrence in the Brazilian Cerrado. Several genera in the family Vochysiaceae are enantiostylous: *Qualea*, including *Ruizterania*, *Callisthene*, *Erisma* and *Salvertia* and two species of *Qualea*, *Q. parviflora* and *Q. multiflora* are particularly common in the Cerrados of Central Brazil. We investigated the floral and reproductive biology of these two species that show monomorphic enantiostyly. We did not find differences between floral morphs in any reproductive aspect like the proportion of flowers, resource offered - nectar - quantity and viability of pollen and fruit production. We also confirmed the presence of an incompatibility system and described floral visitors in the populations of these species in detail. We also evaluated the functionality of floral reciprocity between morphs and the role of different types of pollinators in the pollen transference. According to our results, in *Qualea parviflora* and *Q. multiflora* enantiostyly is reinforced as a strategy to promote cross pollination between morphs. However, it also reduces levels of selfing and geitonogamy and, together with the incompatibility system should preclude inbreeding depression.

INTRODUÇÃO GERAL

Os polimorfismos florais consistem na presença de diferentes formas florais dentro da mesma espécie e sua função está relacionada, geralmente, à polinização cruzada (Barrett *et al.* 2000; Jesson & Barrett 2003). Dentre os polimorfismos destacam-se a heterostilia, o dimorfismo estilar, a flexistilia e a enantioestilia (Barrett *et al.* 2000). A enantioestilia é um polimorfismo floral, no qual dentro da mesma espécie, existem duas formas florais que diferem na deflexão do estilete em relação ao eixo floral. Em um morfo floral, o estilete está disposto à direita e as anteras à esquerda, sendo recíprocas, configurando flores do morfo direito, e no outro morfo o estilete está à esquerda e as anteras à direita, denominado morfo esquerdo (Barrett 2002a; Jesson & Barrett 2003).

A enantioestilia pode se apresentar de duas formas, uma é a forma dimórfica (um morfo floral por indivíduo) e a outra monomórfica (os dois morfos em um indivíduo) (Jesson & Barrett 2003). A forma dimórfica é caracterizada por ter indivíduos dentro da população que só apresentam flores voltadas para a direita e indivíduos que só apresentam flores voltadas para a esquerda (Barrett *et al.* 2000; Jesson *et al.* 2003). O outro tipo de enantioestilia, a monomórfica, ocorre quando o mesmo indivíduo apresenta os dois morfos florais na mesma planta e pode ser subdividida em dois níveis (Jesson & Barrett 2003). O primeiro nível corresponde a inflorescências que possuem apenas flores direitas e outras com apenas flores esquerdas, no mesmo indivíduo, já no segundo nível as inflorescências possuem tanto flores direitas quanto esquerdas distribuídas de forma randômica ou seguindo algum padrão de distribuição não randômico (Barrett 2002a) (Figura 1).

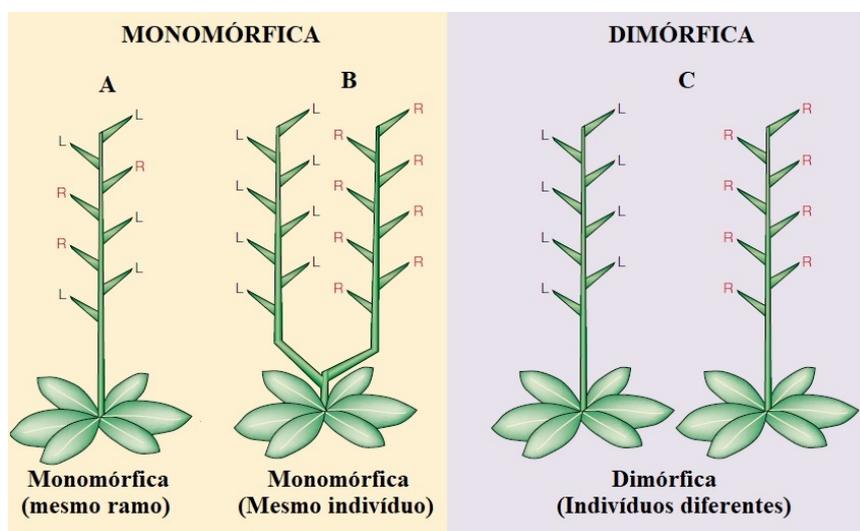


Figura 1 – Representação da enantiostilia. A – Enantiostilia monomórfica - flores de morfos opostos ocorrendo no mesmo ramo de um indivíduo. L-left (esquerdo); R-right (direito); B – Enantiostilia monomórfica - flores de apenas um morfo em ramos separados de um mesmo indivíduo; C – Enantiostilia dimórfica - flores de apenas um morfo ocorrendo em cada indivíduo. Modificada de Barrett (2002a).

A funcionalidade da enantiostilia está relacionada com o fluxo de pólen entre indivíduos. A existência de dois morfos diferentes, que formam uma imagem especular, permite que um polinizador seja efetivo na transferência de pólen de um morfo floral para outro. Ao entrar em contato com uma flor de um morfo dito esquerdo, o polinizador acumula pólen em uma região do corpo que quando em contato com uma flor de morfo oposto, o depositará na região estigmática dessa flor (Barrett et al. 2000; Barrett 2002b). Para que essa transferência de pólen entre a antera de um morfo para o estigma de outro morfo seja eficiente, acredita-se que a posição entre os órgãos reprodutivos masculinos e femininos tenha que ser a mais recíproca possível. A função da enantiostilia dimórfica promovendo o transporte de pólen entre morfos foi analisada em trabalhos anteriores (Barrett et al. 2000; Barrett 2002a; Jesson & Barrett 2002b,c; Jesson & Barrett 2003), contudo ainda há poucos estudos a respeito da função da enantiostilia monomórfica (Almeida et al. 2013a,b; 2015a,b; 2018; Amorim et al. 2017), assim como as pressões seletivas que podem originar e manter este tipo de polimorfismo.

Nas espécies enantiostílicas, tanto monomórfica quanto dimórfica, se espera que a proporção de morfo direito (D) e esquerdo (E) seja de 1:1 nas populações, sendo essa condição conhecida como isopleitia (Ganders 1979). O equilíbrio se mantém devido, entre outros fatores, por ambos os morfos serem igualmente atrativos aos polinizadores, por possuir um volume e concentração de açúcar no néctar igual entre morfos, o que levaria a uma taxa de visitação de polinizadores igual entre morfos (Leege & Wolfe 2002). Além disso, é esperado que os dois morfos recebam a mesma proporção de visitas o que colabora com a redução da geitonogamia ao menos pela metade já que metade das flores são de um morfo e metade de outro (Barrett et al. 2000; Barrett 2002). Ainda assim, poucos estudos analisaram essa característica. Em espécies enantiostílicas, monomórficas ou dimórficas, não há relatos de anisopleitia (quando não há isopleitia) (Almeida et al. 2015a), sendo inclusive justificada pela funcionalidade do próprio sistema reprodutivo, uma vez que o equilíbrio entre a quantidade de flores de morfo D e

E proporciona uma igual possibilidade de ambos os morfos receberem pólen de flores de morfo oposto (Bahadur et al. 1990; Barrett 2002a) por meio da captura do pólen em partes específicas do corpo do polinizador (Almeida et al. 2014).

A enantiostilia tem ocorrência registrada até o momento em pelo menos 12 famílias (Barrett 2000), sendo que a maioria das espécies enantiostílicas são monomórficas (Jesson et al. 2003b). Apenas três famílias apresentam enantiostilia dimórfica, Haemodoraceae (Orndulf & Dulberger 1978; Helme & Linder 1992; Jesson & Barrett 2002b; Jesson et al. 2003b; Ferrer et al. 2011), Pontederiaceae (Jesson & Barrett 2002b; Jesson et al. 2003b; Ferrer et al. 2011; Ness et al. 2011; Palmer 2016) e Tecophilaeaceae (Dulberger & Orndulf 1980; Ferrer et al. 2011). Estudos discutem que a baixa ocorrência de enantiostilia dimórfica se dá pela condição monomórfica ter surgido primeiro que a condição dimórfica (Jesson et al. 2003b). Além disso, a enantiostilia monomórfica é suficientemente efetiva em promover a polinização cruzada (Barrett 2000). Novos trabalhos têm sido realizados com espécies enantiostílicas (Kolehmainen et al. 2010; Arceo-Gómez et al. 2010, 2012; Ren et al. 2013; Vallejo-Marín et al. 2013; Almeida et al. 2013a,b; 2015a,b; 2018; Anderson et al. 2015; Anderson et al. 2016; Amorim et al. 2017; Mora-Carrera et al. 2018) e por isso se torna interessante revisar a evolução deste polimorfismo nas Angiospermas.

A família Vochysiaceae possui uma grande representatividade de espécies no mundo com cerca de 250 nomes válidos distribuídos em 8 gêneros, sendo 6 neotropicais (Shimizu 2016). É uma família, majoritariamente, de ocorrência sulamericana, tendo no Brasil cerca de 160 espécies distribuídas em 6 gêneros (Souza & Lorenzi 2008) e na região do Cerrado cerca de 51 espécies distribuídas em 4 gêneros (Sano et al. 2008). Inúmeras espécies dentro da família apresentam enantiostilia, como espécies dentro dos gêneros *Callisthene*, *Erisma*, *Qualea* (incluindo *Ruizterania*) e *Salvertia* (Barbosa 1983; Aveiro 1997; Santos 1997; Oliveira 1998; Dulmen 2001; Rodriguez & Sanoja 2008; Borges 2011; Andena et al. 2012; Soares et al. 2012; Carneiro 2013; Assunção et al. 2014; Custódio et al. 2014). Uma diferença na manifestação da enantiostilia em Vochysiaceae é que a família apresenta características florais distintas da maioria das demais espécies enantiostílicas (Graham & Barrett 1995). Elas apresentam anteras com aberturas longitudinais, em contraste com as anteras poricidas da maioria das espécies enantiostílicas, presença de nectários e néctar como recurso para atração de polinizadores ao contrário de pólen (Shimizu 2016). Utilizando a família Vochysiaceae como modelo para a enantiostilia monomórfica, esta tese teve por objetivo 1 –

investigar como a enantiostilia se distribui entre as Angiospermas e quantas vezes tem, evolutivamente, aparecido; 2 – estudar a biologia reprodutiva de duas espécies enantiostílicas em Vochysiaceae (*Qualea parviflora* e *Q. multiflora*) com características atípicas e avaliar possíveis diferenças nos morfos florais; 3 – explorar a funcionalidade da enantiostilia em espécies monomórficas. Nesse contexto, o primeiro capítulo revisou os trabalhos feitos com espécies enantiostílicas, a partir dos estudos de Jesson & Barrett (2002a, b e c), Jesson e Barrett (2003) e Jesson et al. (2003a e b). No segundo capítulo, nosso objetivo foi avaliar se a enantiostilia promove sucesso reprodutivo diferencial entre os morfos florais de *Qualea parviflora* e *Q. multiflora* (Figura 2) por meio da caracterização de recompensas florais (pólen e néctar), comparação dos polinizadores em diferentes populações e o sistema de autoincompatibilidade dessas espécies. O terceiro capítulo utilizou *Qualea parviflora* e *Q. multiflora* como modelo para testar a funcionalidade da enantiostilia. Verificamos o nível de reciprocidade dos órgãos reprodutivos e se há um maior fluxo de pólen influenciado pela reciprocidade na enantiostilia. Avaliamos também dentre os visitantes florais quais apresentam maior potencial para transferir pólen entre morfos e se a enantiostilia promove um fluxo de pólen maior entre morfos diminuindo a geitonogamia e autopolinização.



Figura 2 – Inflorescências de *Qualea*. Esq. *Qualea parviflora*; dir *Q. multiflora*. Nesta última é mostrada a enantiostilia monomórfica com a ocorrência dos dois morfos no mesmo ramo.

Justificativa e breve histórico

A enantiostilia é um polimorfismo relativamente conhecido, entretanto poucos estudos foram realizados com o intuito de analisar a sua funcionalidade (Barrett et al. 2000). Esse polimorfismo é apontado como uma forma de favorecer a polinização cruzada, uma vez que o polinizador acumula pólen em uma região específica do corpo, na qual estará em contato com uma flor do morfo oposto, sendo que esse pólen será depositado na região estigmática dessa flor (Barrett et al. 2000; Barrett 2002a). Isto tem importância relatada especialmente em espécies enantiostílicas dimórficas, pois cada indivíduo porta apenas flores de um morfotipo. Entretanto, a funcionalidade da enantiostila monomórfica tem sido pouco explorada em trabalhos recentes (Almeida et al. 2013a,b; 2015a,b) e estes estudos têm sido feitos em poucos grupos de plantas.

A enantiostilia monomórfica é prevalente sobre a dimórfica Jesson & Barrett (2003) relatam que pelo menos 10 famílias apresentam enantiostilia monomórfica, dentre elas: Pontederiaceae, Haemodoraceae e Tecophilaeaceae, dentre as monocotiledôneas. Solanaceae, Caesalpiniaceae (Fabaceae) e Gesneriaceae, dentre as eudicotiledôneas. Enquanto que a enantiostilia dimórfica ocorre em cerca de três famílias: Haemodoraceae, Pontederiaceae e Tecophilaeaceae. Além disso, estudos filogenéticos indicam que a enantiostilia monomórfica surgiu anteriormente à dimórfica e que tanto a enantiostilia monomórfica quanto a dimórfica tem como função primordial a redução da transferência de pólen geitonogâmico e o aumento da exportação de pólen (Jesson & Barrett 2003). Poucos trabalhos com espécies enantiostílicas foram realizados no Brasil, dentre eles estudos com a subtribo Cassinae (Fabaceae). Em algumas espécies dessa tribo ocorre um tipo de polinização chamada de “ricochete”, na qual uma pétala que envolve os verticilos florais se desloca apenas com a chegada do polinizador, evidenciando as anteras e estigmas (manipulação e peso sobre a flor) e, seguidamente, a vibração do mesmo, no caso abelhas, promove a movimentação do pólen no sentido dessa pétala onde o pólen é “ricocheteado” e depositado sobre o dorso do visitante (Almeida et al. 2013b). Também há relatos de enantiostilia para diversas espécies da família Vochysiaceae, desenvolvidos até mesmo com *Qualea multiflora* e *Q. parviflora*, porém são estudos de biologia reprodutiva e cujos tratamentos realizados não avaliam a funcionalidade da enantiostilia (Barbosa 1983; Santos 1997). Além desses, existem estudos com *Qualea cordata* (Aveiro 1997), *Callisthene fasciculata*, *C. major*, *Qualea multiflora* e *Q. parviflora* (Custódio 2011).

Muito além do conhecimento biológico clássico, entender como os sistemas reprodutivos funcionam e são influenciados no Cerrado, talvez por fatores históricos de formação do bioma, grupos funcionais específicos e/ou por processos recentes de fragmentação ambiental, têm grande importância à medida que auxilia na explicação dos padrões gerais de diversidade na estrutura de comunidades e também por ajudarem a identificar gargalos de desenvolvimento durante a devastação de habitats naturais (Bawa 1990). Pouco se sabe sobre a enantiostilia nas espécies brasileiras sobretudo em espécies que possuem um sistema diferenciado de liberação de pólen e oferta de recurso como ocorre em *Qualea parviflora* e *Q. multiflora*. Devido a isso o presente estudo contribuirá com novas informações a respeito da enantiostilia, aumentará o banco de dados a respeito das espécies do Cerrado e poderá auxiliar em estudos ecológicos de macroescala.

A presente tese se divide em três capítulos nos quais trataremos de elucidar aspectos morfológicos acerca da enantiostilia em espécies de *Qualea*, além de estudar a evolução e o significado funcional da enantiostilia, sobretudo a monomórfica. Os capítulos são:

Capítulo 1 – Ocorrência de enantiostilia entre as Angiospermas.

Capítulo 2 – Reproductive biology and pollinators in two enantiostylous *Qualea* species (Vochysiaceae) in the Brazilian Cerrado

Capítulo 3 – Eficácia da reciprocidade floral no fluxo de pólen na enantiostilia: o caso de *Qualea* sp. (Vochysiaceae).

BIBLIOGRAFIA CITADA

Almeida NM, Castro CC, Leite AV, Novo RR, Machado IC. 2013a. Enantiostyly in *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): floral morphology, pollen transfer dynamics and breeding system. *Plant Biology* 15: 369-375.

Almeida NM, Castro CC, Leite AV, Novo RR, Machado IC. 2013b. Floral polymorphism in *Chamaecrista flexuosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): a possible case of atypical enantiostyly? *Annals of Botany* 112: 1117–1123.

Almeida NM, Bezerra TT, Oliveira CRS, Novo RR, Siqueira-Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2015a. Breeding systems of enantiostylous Cassiinae species (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Flora* 215: 9-15.

- Almeida NM, Cotarelli VM, Souza DP, Novo RR, Siqueira Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2015b. Enantiostylous types of Cassiinae species (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Plant Biology* 17: 740-745.
- Almeida NM, Souza JT, Oliveira CRS, Bezerra TT, Novo RR, Siqueira-Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2018. Functional dimorphic enantiostyly in monomorphic enantiostylous species of the subtribe Cassiinae (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Plant Biology* 20: 797–801.
- Amorim T, Marazzi B, Soares AA, Forni-Martins ER, Muniz CR, Westerkamp C. 2017. Ricochet pollination in *Senna* (Fabaceae) - petals deflect pollen jets and promote division of labour among flower structures. *Plant Biology* 19(6): 951-962.
- Anderson GJ, Bernardello G, Santos-Guerra A. 2015. Reproductive biology of *Solanum vespertilio* (Solanaceae), a zygomorphic, heterantherous, enantiostylous, and andromonoecious rare Canary Islands endemic. *Plant Systematic and Evolution* 301:1191–1206.
- Anderson GJ, Bernardello G, Bohs L, Weese T, Santos-Guerra A. 2016. Phylogeny and biogeography of the Canarian *Solanum vespertilio* and *S. lidii* (Solanaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63(2): 159-167.
- Andena SR, Santos EF, Noll FB. 2012. Taxonomic diversity, niche width and similarity in the use of plant resources by bees (Hymenoptera: Anthophila) in a cerrado área. *Journal of Natural History*. 46(27-28): 1663-1687.
- Assunção VA, Casagrande JC, Sartori AALB. 2014. Floristics and Reproductive Phenology of Trees and Bushes in Central West Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 86(2): 785-799.
- Aveiro SMG. 1997. Biologia da reprodução e crescimento inicial de *Qualea cordata* Spreng (Vochysiaceae), uma espécie arbórea do Cerrado. 156 f. Tese. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Barbosa AAA. 1983. Aspectos da Ecologia Reprodutiva de três espécies de *Qualea* (Vochysiaceae) num Cerrado de Brasília – DF. Dissertação. Universidade de Brasília, Departamento de Botânica, Brasília/DF.
- Bahadur B, Chaturvedi A, Swamy NR. 1990. SEM studies of pollen in relation to enantiostyly and heterantery in *Cassia* (Caesalpinaceae). *Journal of Palynology* 91: 7-22.

- Barrett SCH, Jesson LK, Baker AM. 2000. The Evolution and Function of Stylar Polymorphisms in Flowering Plants. *Annals of Botany*. 85(Supplement A): 253-265.
- Barrett SCH. 2002a. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics*. 3: 274–284.
- Barrett SCH. 2002b. Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88: 154–159.
- Bawa KS. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rain Forests. *Annual Reviews in Ecology Systematics* 21: 399-422.
- Borges MP. 2011. Diversidade florística e funcional em formações florestais ribeirinhas no triângulo Mineiro, MG, Brasil. Dissertação Universidade de Uberlândia, Departamento de Botânica, Uberlândia/MG. 77f.
- Carneiro MS. 2013. Efeito da estrutura da paisagem sobre a riqueza e Diversidade de árvores em grupos funcionais reprodutivos. Dissertação Universidade de Alfenas, Departamento de Ecologia e Tecnologia Ambiental, Alfenas/MG. 77f.
- Custódio LN. 2011. Ecologia reprodutiva de espécies de *Callisthene* e *Qualea* (Vochysiaceae): aborto, poliembrião e predação de sementes. 93 f. Dissertação. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- Custodio LN, Carmo-Oliveira R, Mendes-Rodrigues C, Oliveira PE. 2014. Pre-dispersal seed predation and abortion in species of *Callisthene* and *Qualea* (Vochysiaceae) in a Neotropical savanna. *Acta Botanica Brasilica* 28(3): 309-320.
- Dulmen, A. 2001. Pollination and phenology of flowers in the canopy of two contrasting rain Forest types in Amazonia, Colombia. *Plant Ecology*. 153: 73–85.
- Ferrer MM, Cen BEM, Roberto MEC, Tec LAC, Martínez CAH, Kan AEM, Uc YJM, Uicab LRS, Canché MGT. 2011. Las diferentes formas de las flores: pistilos cambiantes, o de cómo volar entre espejos o ser una especie flexible. *Bioagrociências* 4(1): 6-17.
- Ganders FR. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-35.
- Graham SW, Barrett SCH. 1995. Phylogenetic Systematics of Pontederiales. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ. 1995. *Monocotyledons: Systematic and Evolution* 415-441. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Helme NA, Linder HP. 1992. Morphology, evolution and taxonomy of *Wanchendorfia* (Haemodoraceae). *Bothalia* 22(1): 59-75.

- Jesson LK, Barrett SCH. 2002a. Enantiostyly in *Wachendorfia* (Haemodoraceae): The influence of reproductive systems on the Maintenance of the polymorphism. *American Journal of Botany* 89(2): 253–262.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002b. Solving the puzzle of mirror-image flowers. *Nature* 417:707.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002c. The genetics of mirror-image flowers. *Proceeding and Resourch Society of London B* 269: 1835–1839.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Science* 164(5 Suppl.): 237–249.
- Jesson LK, Barrett SCH, Day T. 2003a. A Theoretical Investigation of the Evolution and Maintenance of Mirror-Image Flowers. *The American Naturalist* 161(6): 916–930.
- Jesson LK, Kang J, Wagner SL, Barrett SCH, Dengler NG. 2003b. The Development of Enantiostyly. *American Journal of Botany* 90(2): 183–195.
- Kolehmainen J, Korpelainen H, Mutikainen P. 2010. Inbreeding and inbreeding depression in a threatened endemic plant, the African violet (*Saintpaulia ionantha* ssp. *grotei*), of the East Usambara Mountains, Tanzania. *African Journal of Ecology* 48: 576–587.
- Leege LM, Wolfe LM. 2002. Do floral herbivores respond to variation in flower characteristics in *Gelsemium sempervirens* (Loganiaceae), a distylous vine? *American Journal of Botany* 89: 1270–1274.
- Mora-Carrera E, Castañeda-Zárate M, Fornoni J, Boege K, Domínguez CA. 2018. On the adaptive value of monomorphic versus dimorphic enantiostyly in *Solanum rostratum*. *Annals of Botany* XX: 1–8.
- Ness RW, Graham SW, Barrett SCH. 2011. Reconciling Gene and Genome Duplication Events: Using Multiple Nuclear Gene Families to Infer the Phylogeny of the Aquatic Plant Family Pontederiaceae. *Molecular Biology and Evolution* 28(11): 3009–3018.
- Oliveira PE. 1998. Reproductive Biology, Evolution and taxonomy of the Vochysiaceae in the Central Brasil. *In*: Owens SJ, Rudall PJ. *Reproductive Biology*. 381–393.
- Palmer AR. 2016. What determines direction of asymmetry: genes, environment or chance? *Philosophical Transactions B* 371: 1–16.

- Ren M-X, Zhong Y-F, Song X-Q. 2013. Mirror-image flowers without buzz pollination in the Asian endemic *Hiptage benghalensis* (Malpighiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 173: 764–774.
- Rodríguez L, Sanoja E. 2008. Fenología, biología floral de polinización de especies de la familia Vochysiaceae en la Guayana Venezolana. *Acta Botanica Venezuelana* 31: 331-366.
- Sano SM, Almeida SP, Ribeiro JF. 2008. Cerrado: Ecologia e flora (checklist). v.2. Embrapa Cerrados. Brasília/DF. 1279p.
- Santos ML. 1997. Biologia floral de duas espécies de Vochysiaceae em um Cerrado sobre afloramento basáltico em Araguari, MG. Dissertação Universidade de Brasília, Departamento de Botânica, Brasília/DF. 93f.
- Shimizu GH. 2016. Phylogenetic, taxonomic and nomenclatural studies in Vochysiaceae and synopsis of *Vochysia* in Brazil. Tese Universidade de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas/SP. 126f.
- Soares SMNA, Kaehler TG, Araujo RB, Falconer D, Silva DP, Monteiro VM. 2012. Biologia Floral, enantiostilia, sistema reprodutivo e potenciais polinizadores de *Callisthene minor* Mart (Vochysiaceae), Chapada dos Veadeiros – Brazil. *Biologia e Ecologia da polinização. Curso de campo* 3: 89-97.
- Souza VC, Lorenzi H. 2008. *Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas do Brasil, baseado em APG III*. 3 ed. Nova Odessa/SP: Instituto Plantarum. 768p.

CAPÍTULO 1 – Ocorrência de enantiostilia entre as Angiospermas

Introdução

A enantiostilia é um polimorfismo floral, no qual dentro da mesma espécie, existem duas formas florais que diferem na deflexão do gineceu em relação ao eixo floral. Em um morfo floral, o estilete está disposto à direita e as anteras à esquerda, sendo essas flores ditas do morfo direito, e no outro morfo o estilete está à esquerda e as anteras à direita, denominado morfo esquerdo (Barrett 2002a; Jesson & Barrett 2003). A enantiostilia é dimórfica quando ocorre um único morfo floral por indivíduo ou monomórfica, quando os dois morfos ocorrem em um indivíduo (Barrett et al. 2000; Jesson et al. 2003b; Jesson & Barrett 2003). Além disso, a enantiostilia monomórfica pode manifestar-se de duas maneiras, uma em que a planta possui inflorescências apenas com flores direitas e inflorescências apenas com flores esquerdas e outra em que as flores direitas e esquerdas ocorrerem na mesma inflorescência (Jesson & Barrett 2003).

Até o momento esse polimorfismo é relatado em pelo menos 12 famílias (Barrett et al. 2000), cerca de 3% das Angiospermas (Vallejo-Marín et al. 2010), e a enantiostilia monomórfica parece ser prevalente sobre a dimórfica (Jesson & Barrett 2003; Jesson et al. 2003). Sabe-se até agora que apenas três famílias apresentam enantiostilia dimórfica, sendo elas Haemodoraceae com cinco espécies em dois gêneros (Orndulf & Dulberger 1978; Helme & Linder 1992; Jesson & Barrett 2002a; Jesson et al. 2003b; Ferrer et al. 2011), Pontederiaceae com uma espécie (Jesson & Barrett 2002a; Jesson et al. 2003b; Ferrer et al. 2011; Ness et al. 2011; Palmer 2016) e Tecophilaceae com 2 espécies em um gênero (Dulberger & Orndulf 1980; Ferrer et al. 2011).

Estudos filogenéticos propõem que a enantiostilia monomórfica surgiu anteriormente à dimórfica (Jesson & Barrett 2003; Jesson et al. 2003b) pois esta última ocorre apenas em famílias onde a monomórfica está presente. Além disso, trabalhos ecológicos acreditam que tanto a enantiostilia monomórfica quanto a dimórfica tem como função primordial o aumento da exportação de pólen e a redução da transferência de pólen geitonogâmico (Jesson & Barrett 2003). A enantiostilia dimórfica é mais efetiva em promover o fluxo de pólen entre indivíduos do que a monomórfica, entretanto a enantiostilia monomórfica reduz ao menos à metade a geitonogamia (Jesson & Barrett 2003).

Nas últimas décadas o uso de dados moleculares tem permitido responder múltiplas questões. Uma árvore filogenética, que é uma hipótese das relações de parentesco entre as espécies, permite a reconstrução de um ou vários caracteres existentes em um ramo de interesse (Joy et al. 2016). Estudos anteriores têm mostrado como os órgãos das plantas se desenvolveram na história evolutiva das Angiospermas como por exemplo, a evolução das flores nesse grupo (Endress & Douyle 2009; Sauquet et al. 2017). Estudos moleculares ajudam a estabelecer relações filogenéticas entre espécies próximas como espécies de *Betula* (Bina et al. 2016), ou mesmo esclarecer padrões de distribuição biogeográfica entre famílias de uma mesma ordem como em Myrtales (Berger et al. 2016). Em filogenias datadas pode-se inclusive inferir há quanto tempo aconteceram os processos de evolução de um determinado ramo, por exemplo como a poliploidia dirigiu a grande radiação da família Brassicaceae (Hohmann et al. 2015).

Estudos anteriores fizeram uma revisão da ocorrência de enantiostilia entre as Angiospermas com relato de ocorrência em 10-12 famílias (Barrett et al. 2000; Jesson & Barrett 2003; Jesson et al. 2003a,b), distribuídas em 8 ordens com a maioria das espécies apresentando enantiostilia monomórfica. Como dito anteriormente, apenas um pequeno número de espécies apresenta enantiostilia dimórfica e essa se concentra em espécies presentes em famílias de ordens dentro das monocotiledôneas. Apesar desses estudos serem uma boa base para estudos sobre o desenvolvimento e a manutenção da enantiostilia, se faz necessário revisar os novos trabalhos que vêm surgindo nos últimos 15 anos sobre a presença da enantiostilia em outras taxa e o desenvolvimento e funcionalidade desse polimorfismo. Dessa forma é interessante ver como estes polimorfismos se distribuem de acordo com recentes hipóteses evolutivas propostas para as Angiospermas (APG IV 2016).

Segundo a literatura, as espécies descritas até agora que apresentam enantiostilia dimórficas se encontram em famílias dentro das ordens Commelinales e Asparagales. Dessa forma optamos por fazer a reconstrução de carácter ancestral utilizando o grupo de Commelinids + Asparagales e utilizamos Liliales como grupo externo, pois esse é o único grupo dentro das Angiospermas a apresentar espécies tanto com enantiostilia monomórfica, dimórfica e ausência de enantiostilia. Nesse contexto, esse capítulo tem como objetivo 1. Elaborar o “estado da arte” dos trabalhos realizados com espécies enantiotílicas em Angiospermas adicionando novos registros a partir das revisões de Jesson & Barrett (2003) e Jesson et al. (2003a,b); 2. Averiguar quantas vezes a

enantiostilia surgiu independentemente na história das Angiospermas; 3. Confirmar se a enantiostilia dimórfica surge à partir da enantiostilia monomórfica

Material e métodos:

Fizemos uma revisão de literatura de todas as famílias/espécies que apresentam enantiostilia, utilizando as revisões publicadas por Jesson & Barrett (2003) e Jesson et al. (2003a,b) como ponto de partida. Realizamos a revisão das famílias/espécies botânicas que apresentam enantiostilia por meio de uma busca sistematizada. Utilizamos as ferramentas de busca “Google acadêmico” e “Web of Science”. No Google acadêmico, fizemos a busca por artigos relacionados aos temas entre os dias 23/01/2017 e 29/01/2017. Pesquisamos sem restrição de data de publicação e desmarcamos as opções “incluir patente” e “incluir citações”. Utilizamos as palavras-chave: “enantiostilia”; “enantiostyly”; “mirror-image flowers” e “enantiomorph*” para artigos relacionados à enantiostilia em geral. Já no Web of Science, utilizamos as mesmas palavras-chave sem restrição de data de publicação. Mesclamos as planilhas geradas e retiramos os artigos repetidos para as duas plataformas de busca. Além disso, artigos que, de fato, não correspondiam ao tema da pesquisa foram retirados. Com o intuito de acompanhar novos artigos que possam surgir sobre o tema, criamos alertas no Google acadêmico com as palavras-chave utilizadas até 30/11/2018. Por meio da revisão dos artigos, selecionamos todos que apresentam espécies com enantiostilia. Geramos então uma tabela com todas as espécies/gêneros que são conhecidos como sendo enantiostílicos, família botânica à qual pertencem e as referências utilizadas. Indicamos o tipo de enantiostilia que cada espécie apresenta (monomórfica ou dimórfica). Além dos artigos encontrados na busca, incluímos na planilha artigos que não apareceram na busca, mas que já sabíamos ter relação com tema pesquisado.

Visando confirmar a teoria de que a enantiostilia monomórfica precede a enantiostilia dimórfica na história evolutiva das Angiospermas e que esse caracter evoluiu independentemente diversas vezes entre as Angiospermas (Jesson & Barrett 2003), fizemos uma reconstrução de caracter para a presença de enantiostilia monomórfica, dimórfica ou ausência de enantiostilia. Para testar nossa hipótese utilizamos duas abordagens. Primeiro reconstruímos a filogenia das Angiospermas com base na filogenia presente no APG IV (APG IV 2016) para avaliar em quantas ordens a enantiostilia é presente neste grupo. A filogenia foi construída com base nas sequências

disponíveis no GenBank (ver a lista completa das espécies e sequências utilizadas no Anexo 1). Baixamos as sequências em setembro de 2018, criamos um arquivo nexus que foi o input com o alinhamento de sequências de DNA de cloroplasto (*rbcL* e *matK*) de 64 espécies, cada uma representando uma ordem presente nas Angiospermas (APG IV 2016). Para cada ordem que apresenta enantioestilia buscamos priorizar a espécie enantioestilica com sequência disponível no GenBank.

Para a reconstrução da relação entre os representantes de Commelinids + Asparagales utilizamos também sequências disponíveis (ver Anexo 2) no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), baixadas em setembro de 2018. Com essas sequências igualmente criamos um arquivo nexus que foi o input com o alinhamento de sequências de DNA de cloroplasto (*rbcL* e *matK*) de 54 espécies e informações sobre caracteres de interesse sendo 0 para ausência de enantioestilia, 1 para presença de enantioestilia monomórfica e 2 para presença de enantioestilia dimórfica. Para cada ordem que não apresenta enantioestilia utilizamos a sequência de uma espécie por família para representá-la, para as famílias que apresentam enantioestilia monomórfica e ausência de enantioestilia, utilizamos uma espécie para cada caractere para famílias com enantioestilia dimórfica, utilizamos três espécies para representá-la sendo uma com ausência de enantioestilia, uma com enantioestilia monomórfica e uma com enantioestilia dimórfica.

Para ambas as reconstruções filogenéticas utilizamos o programa Geneious 11.0.5 (<https://www.geneious.com>) para criação dos arquivos contig para análise da qualidade das sequências e para edição das mesmas. Uma vez que as sequências estavam prontas, fizemos o alinhamento utilizando o programa MUSCLE 3.8.425 (Edgar 2004) com as seguintes configurações: grouping sequences by similarity, 8 iterations maximum, anchor optimization, clustering method UPGMB, sequence weighing scheme CLUSTALW, como padrão. Na sequência, realizamos edições manuais no programa Geneious quando necessário. Fizemos a reconstrução das árvores filogenéticas bayesianas, tanto para ordens em Angiospermas quanto para Commelinids + Asparagales, utilizando o programa MrBayes (Huelsenbeck & Ronquist 2001) e para fazer a reconstrução do carácter ancestral em Commelinids + Asparagales utilizamos o programa Mesquite versão 3.51. (Maddison & Maddison 2018). Utilizamos um modelo de maximum likelihood para a reconstrução, Markov-1 parameter (est.).

Resultados:

Dos 346 artigos encontrados relacionados a enantiostilia, apenas 129 citam espécies enantiostílicas. Em nosso trabalho, encontramos registros para enantiostilia em 139 espécies, distribuídas em 42 gêneros, 17 famílias e 11 ordens, 5 famílias além das encontradas por Barrett (2000). A lista completa de publicações sobre enantiostilia revisadas encontra-se no Anexo 3 e a reconstrução filogenética das ordens de Angiospermas destacando as ordens que apresentam enantiostilia encontra-se na Figura 1.

A enantiostilia já era registrada em pelo menos 10 famílias botânicas distribuídas em 8 ordens, Fabales, Myrtales, Dipsacales, Lamiales, Solanales, Gentianales, Asparagales e Commelinales, com a maioria das espécies apresentando enantiostilia monomórfica (Jesson & Barrett 2003). Além dessas 8 ordens encontramos em nossa revisão registros também em Apiales, Zingiberales e Malpighiales. Barrett (2000) fala em 12 famílias com ocorrência de enantiostilia e cita 8 delas: Leguminosae (Fabaceae), Solanaceae, Gesneriaceae, Commelinaceae, Haemodoraceae, Philydraceae, Pontederiaceae e Tecophilaeaceae. Além dessas citadas encontramos enantiostilia ocorrendo também em Pittosporaceae (Apiales), Hyacinthaceae que no APG IV (APG IV 2016) foi incluída em Asparagaceae (Asparagales), Gentianaceae (Gentianales), Malpighiaceae (Malpighiales), Vochysiaceae, Lythraceae e Melastomataceae (comunicação pessoal) (Myrtales), Marantaceae (Zingiberales) e Caprifoliaceae (Dipsacales). Encontramos cerca de 22 citações de enantiostilia apenas para gênero, sem especificar a espécie. Apenas um pequeno número de espécies apresenta enantiostilia dimórfica sendo todas monocotiledôneas: cinco espécies de Haemodoraceae divididas em dois gêneros: *Wachendorfia* e *Barbaretta* (Orndulf & Dulberger 1978; Helme & Linder 1992; Jesson & Barrett 2002a; Jesson et al. 2003; Ferrer et al. 2011), uma espécie de Pontederiaceae: *Heteranthera multiflora* (Jesson & Barrett 2002a; Jesson et al. 2003b; Ferrer et al. 2011; Ness et al. 2011; Palmer 2016) e duas espécies de Tecophilaeaceae ambas do gênero *Cyanella* (Dulberger & Orndulf 1980; Ferrer et al. 2011) todas elas já haviam sido anteriormente citadas como dimórficas, portanto não há novos registros para enantiostilia dimórfica. Nos últimos 15 anos, desde a última revisão feita, 82 novos trabalhos foram realizados com espécies enantiostílicas (Lista completa em Anexo 3).

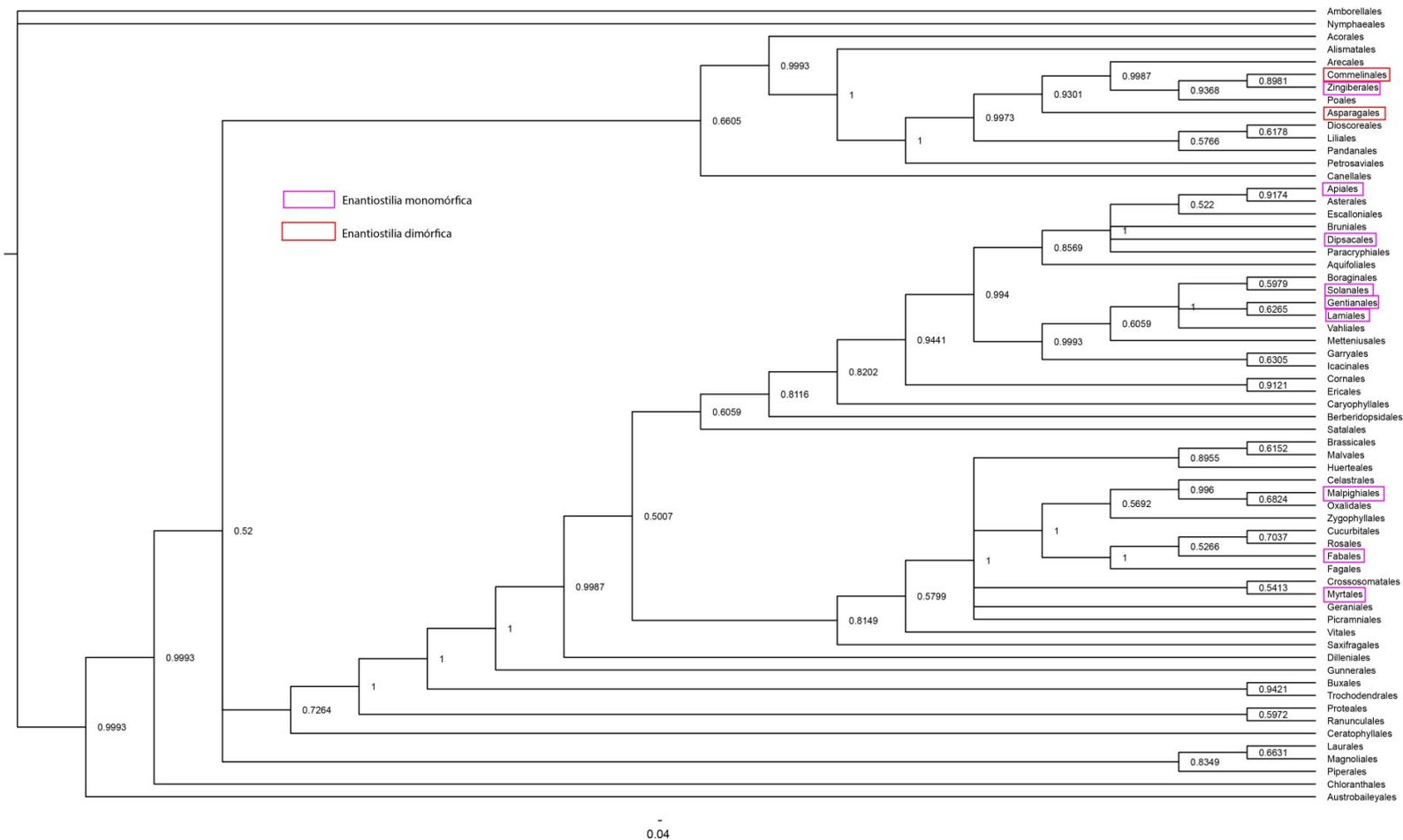


Figura 1 – Árvore de reconstrução filogenética Bayesiana (gerada pelo programa MrBayes) e ocorrências de enantiostilia entre as ordens de Angiospermas. Árvore gerada com sequências do GenBank utilizando os marcadores *rbcl* e *matK*. Retângulos rosa indicam ordens com enantiostilia monomórfica. Retângulos vermelhos indicam ordens com enantiostilia monomórfica e dimórfica.

Commelinaceae apresenta ao menos 16 ocorrências de enantioestilia com ocorrências nos gêneros *Amischotolype*, *Coleotrype*, *Commelina*, *Porandra* e em 12 espécies do gênero *Murdannia* todas com enantioestilia monomórfica. Philydraceae possui apenas uma espécie com enantioestilia monomórfica relatada, *Philydrum lanuginosum*. Haemodoraceae apresenta ao menos 12 registros de enantioestilia nos gêneros *Haemodorum*, *Lachnanthes*, *Schiekia*, 3 espécies de *Dilatris* a espécie *Xiphidium xanthorrhizon*, todas essas com enantioestilia monomórfica, além de *Barbaretta auera* e 4 espécies de *Wachendorfia* apresentando enantioestilia dimórfica.

A ordem Zingiberales apresenta 8 famílias contudo apenas Marantaceae apresenta uma espécie enantioestilica monomórfica, *Maranta leuconeura*. Em todas as outras famílias não existe registro de enantioestilia. A ordem Asparagales possui cerca de 14 famílias de acordo com a filogenia presente em APG IV (APG IV 2016). A família Tecophilaeaceae apresenta enantioestilia em 2 espécies de *Cyanella* sendo *C. alba* registrada como dimórfica e *C. lutea* como monomórfica. Apresenta ainda enantioestilia em *Mucinaea nana* (sinônima de *Drimia nana*) com enantioestilia monomórfica. *Mucinaea* pertence à família Hyacinthaceae que no APG IV foi incluída em Asparagaceae. Essas três ordens apresentam a maior quantidade de registros de enantioestilia e são as únicas que contêm enantioestilia dimórfica (Figura 2).

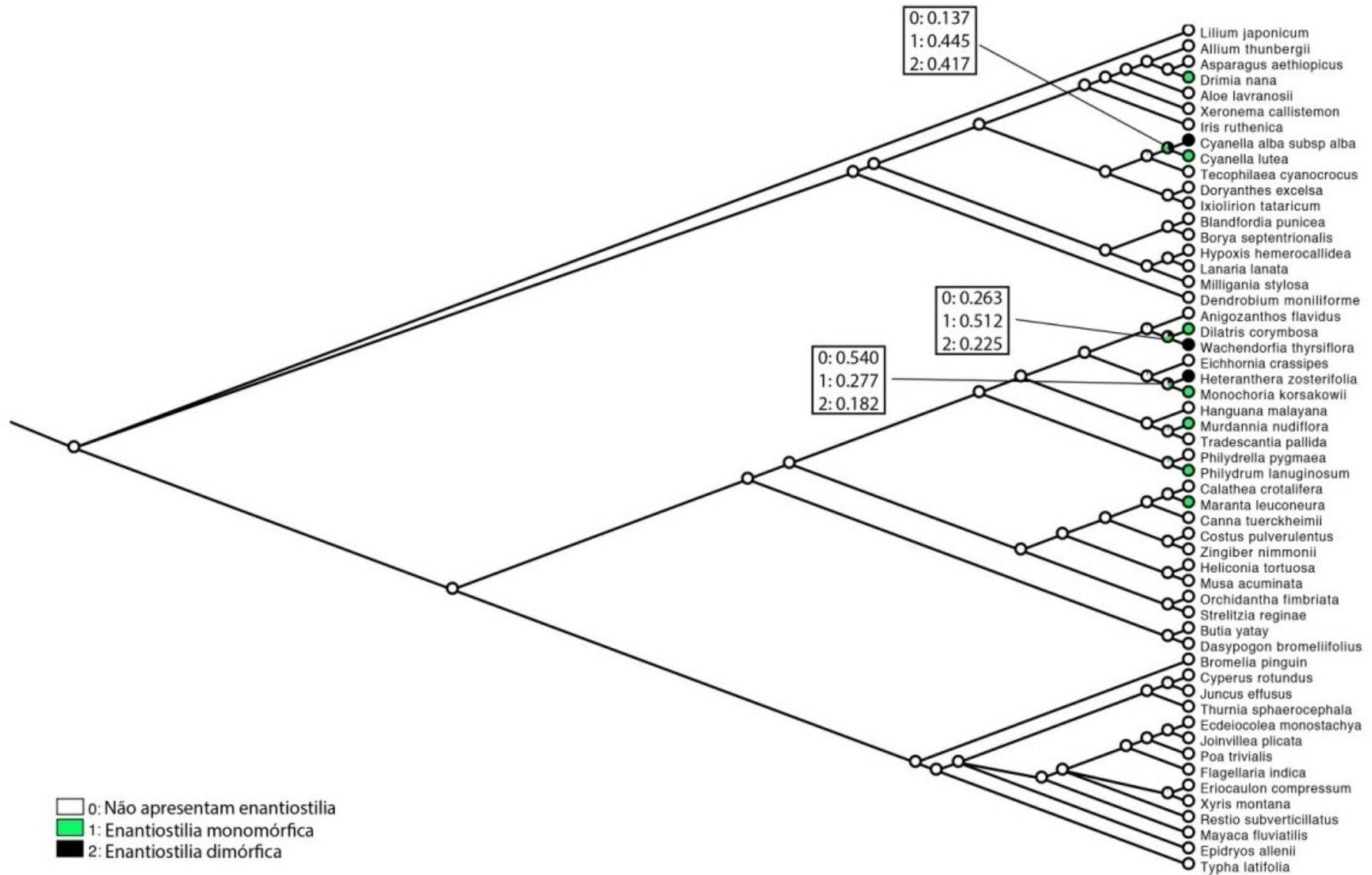


Figura 2 – Árvore de reconstrução filogenética Bayesiana (gerada pelo programa MrBayes com sequências do GenBank utilizando os marcadores *rbcl* e *matK*) e reconstrução de caracter enantioestilia no grupo Commelinids + Asparagales usando o programa Mesquite versão 3.51. Terminais na cor branca representam ausência de enantioestilia, terminais na cor verde representam presença de enantioestilia monomórfica e terminais na cor preta representam presença de enantioestilia dimórfica. As probabilidades apresentadas nos retângulos referem-se à probabilidade dos nodos de ter enantioestilia dimórfica ou monomórfica, as demais probabilidades estão apresentadas na Tabela 1. A árvore bayesiana contendo o suporte dos ramos encontra-se no Anexo 4.

Tabela 1 – Probabilidade da ocorrência dos caracteres ancestrais analisados para cada ramo.

Relação	Ausente	Monomórfica	Dimórfica
<i>Asparagus X Drimia</i>	0.996	0.003	0.000
<i>(Asparagus X Drimia) X Allium</i>	0.999	0.000	0.000
<i>Cyanella alba X C. Lutea</i>	0.137	0.445	0.417
<i>(Cyanella alba X C. lutea) X Tecophilea</i>	0.957	0.021	0.020
<i>Dilatris X Wachendorfia</i>	0.263	0.512	0.225
<i>(Dilatris X Wachendorfia) X Anigozanthos</i>	0.966	0.023	0.010
<i>Monochoria X Heteranthera</i>	0.540	0.277	0.182
<i>(Monochoria X Heteranthera) X Eichhornia</i>	0.925	0.045	0.028
<i>Murdania X Tradescantia</i>	0.904	0.084	0.011
<i>(Murdania X Tradescantia) x Hanguana</i>	0.996	0.003	0.000
<i>Philydrella X Phylidrum</i>	0.875	0.120	0.004
<i>(Philydrella X Phylidrum) X Sem grupo irmão</i>	-	-	-
<i>Maranta X Calathea</i>	0.982	0.016	0.000
<i>(Maranta X Calathea) X Cana</i>	0.999	0.000	0.000

Nas Eudicotiledôneas só são conhecidas espécies enantioestílicas monomórficas. Dentro de Asterids, Apiales e Dipsacales (Campanulids) e Solanales, Gentianales e Lamiales (Lamiids) são enantioestílicas, assim como dentro de Rosids, Malpighiales e Fabales (Fabids) e Myrtales (Malvids) também são. A ordem Apiales possui sete famílias mas apenas a família Pittosporaceae possui duas espécies do gênero *Cheiranthra* com registro de enantioestilia. A outra ordem dentro de Campanulids que apresenta enantioestilia é Dipsacales que possui 2 famílias e apenas Caprofoliaceae

possui um gênero, *Centranthus*, com registro de enantiofilia. Ainda dentro das Asterids, mas no grupo das Lamiids, Solanales possui 5 famílias com apenas Solanaceae apresentando enantiofilia com 8 espécies do gênero *Solanum*. Enquanto que Gentianales possui 5 famílias e apenas no gênero *Exacum* de Gentianaceae encontramos registro para enantiofilia. Já a família Fabaceae apresenta um grande número de espécies com enantiofilia. As espécies da subtribo Cassiinae, *Cassia*, *Senna* e *Chamaecrista*, apresentam algumas das características comuns à enantiofilia como heteranteria, anteras poricidas e conseqüente polinização por vibração além de possuírem pólen como recurso floral aos polinizadores (Almeida 2013a,b, 2015a,b, Amorin et al. 2017). Por fim encerrando o registro de ocorrência de enantiofilia entre as Lamiids, Lamiales apresenta 24 famílias e encontramos registro de espécies enantiofilicas no gênero *Codonoboea*, 3 espécies, no gênero *Ornithoboea*, *Paraboea*, 2 espécies, *Saintpaulia*, 2 espécies e *Streptocarpus* todas da família Gesneriaceae e em *Salvia apiana* da família Lamiaceae.

Em Rosids, Malpighiales possui 36 famílias com apenas Malpighiaceae apresentando enantiofilia em *Hiptage benghalensis* e *Janusia anisandra*. Fabales possui 4 famílias e apenas em Fabaceae encontramos registro de enantiofilia em 13 espécies de *Cassia*, 17 espécies de *Chamaecrista*, 15 espécies de *Senna* além de *Coprosma repens*, *Stanhopea martiana* e *Tamarindus indica*. E por fim dentro de Rosids, em Malvids, Myrtales apresenta enantiofilia. A ordem possui 9 famílias com Lythraceae apresentando enantiofilia em 5 espécies do gênero *Diplusodon* e Vochysiaceae apresentando enantiofilia em quase todos os gêneros da família: *Erisma uncinatum*, 6 espécies de *Qualea*, 3 de *Ruizterania*, *Callisthene* com 3 espécies e *Salvertia convalleriodora*. Além disso, Melastomataceae provavelmente apresenta enantiofilia em *Rhynchanthera* (Brito VLG, pers. comm.).

Discussão:

A literatura existente discute que a enantiofilia tem origem polifilética nas Angiospermas, surgindo, independentemente 11 (Jesson & Barrett 2003) ou 12 vezes (Barrett 2000), porém nosso estudo sugere ao menos 16 eventos evolutivos ligados a origem do polimorfismo (Figura 1, Anexo 4). Em nossa revisão de literatura encontramos 82 novos artigos com citação de enantiofilia e no total há relatos para enantiofilia em 139 espécies, distribuídas em 42 gêneros, 17 famílias e 11 ordens.

Algumas características são comuns entre as espécies enantiofilicas como uma igual proporção entre flores de morfo esquerdo e direito, presença de heteranteria e anteras poricidas com polinização por vibração (Graham & Barrett 1995; Almeida et al. 2013a). Em *Hiptage benghalensis* é possível notar a presença de diversas características comuns à espécies enantiofilicas como a proporção de 1:1 entre morfos florais direito e esquerdo e a heteranteria com 9 estames reduzidos e um estame maior, funcional que inclusive apresenta significativamente mais pólen e maior viabilidade polínica do que as anteras dos estames menores, além disso, a antera desse estame maior se localiza oposta ao estigma (Ren et al. 2013). Contudo essa espécie também apresenta algumas diferenças do padrão encontrado na enantiofilia como por exemplo anteras de abertura longitudinal em oposição à abertura poricida comum em espécies enantiofilicas com heteranteria. Nesse caso, Ren et al. (2013) argumenta que pode ter sido uma adaptação da própria espécie aos polinizadores que nela atuam. São geralmente abelhas do gênero *Apis* (Apidae), que não vibram para retirar pólen. Essa espécie também aparentemente apresenta perda de nectário para polinização e o recurso ofertado ao polinizador é pólen. A presença de um nectário extrafloral está relacionado à atração de insetos, como formigas, que fazem a defesa da planta contra herbívoros permanecendo inclusive durante a formação dos frutos (Ren et al. 2013).

Faegri (1986) definiu as flores de *Cheiranthra* (Pittosporaceae) como flores do tipo “solanoide” por associá-las à flores de Solanaceae. Ele descreve esse tipo de flor como sendo flores sem néctar, com anteras poricidas e pólen pulverulento sendo retirado por abelhas que vibram. Essas características são bem comuns em espécies enantiofilicas das famílias Solanaceae e Fabaceae, subtribo Cassiinae (Almeida 2013 a,b, 2015 a, b, Amorin et al. 2017; Vallejo-Marín et al. 2014). Contudo algumas espécies apresentam variações dessas condições. Em *Centranthus* (Dipsacales), Endress (1999) relata que as flores apresentam antera e estigma deslocados do centro da flor e que essa apresenta um cálcio na região central. A enantiofilia nesse gênero se caracteriza por ter apenas uma antera se opondo ao estigma e néctar como recurso ao polinizador, muito parecido com o que ocorre em espécies de *Qualea* em Vochysiaceae (Oliveira 1998; Capítulo 2). As flores da família Solanaceae possuem geralmente anteras poricidas e polinização por vibração, além disso o recurso oferecido ao polinizador é o pólen, sendo essas características bem comuns em espécies enantiofilicas (Almeida 2013 a,b, 2015 a,b, Amorin et al. 2017; Vallejo-Marín et al. 2014). Jesson & Barrett (2003) sugerem que em flores enantiofilicas não recíprocas e

com pólen como recurso, que necessita de abelhas que vibram, como o que ocorre em *Exacum* (Gentianales), a função da enantiostilia está mais relacionada à hercogamia, que impede interferência entre parte masculina e feminina na flor e também evita danos às peças florais quando manipuladas pelo polinizador, já que essas peças são deslocadas do centro da flor.

Na ordem Myrtales, na família Lytraceae, Barros (1996) estudou alguns aspectos das flores de *Diplusodon* e relata que a espécie apresenta enantiostilia, com flores produtoras de pólen. Já as flores de espécies enantiostílicas de *Qualea* (*Ruizterania*), *Callisthene*, *Erisma* e *Salvertia*, são produtoras de néctar. As flores enantiostílicas da família Vochysiaceae se destacam das demais por não possuírem características típicas da enantiostilia como heteranteria (já que possuem apenas 1 estame), anteras poricidas e pólen como recurso. Todas as espécies da família Vochysiaceae, até mesmo as não enantiostílicas apresentam um cálcio onde armazenam o néctar que é o principal recurso para atração de polinizadores (Shimizu 2016).

Em algumas espécies o relato de ocorrência de enantiostilia é conflitante, pois em alguns trabalhos são descritas como enantiostílicas monomórficas e em outros como enantiostílicas dimórficas. No caso de *Cyanella alba* (Tecophilaceae), Graham & Barrett (1995) relatam que a espécie é enantiostílica monomórfica, enquanto que Ferrer et al. (2011) relatam que é dimórfica. Dulberger & Orndulf (1980) argumentam que tanto *Cyanella alba* quanto *Cyanella lutea* são enantiostílicas monomórficas, mas que funcionalmente são dimórficas. Essas espécies são plantas de pequeno porte e que abrem uma ou poucas flores ao dia e que, portanto, raramente apresentam os dois morfos no mesmo indivíduo no mesmo dia. Jesson & Barrett (2003) argumentam que *Cyanella alba* é dimórfica, mas que em algumas populações apresentam indivíduos monomórficos. Na maioria das espécies enantiostílicas monomórficas, as flores de ambos os morfos se distribuem aleatoriamente nos ramos tendo tanto flores esquerdas quanto direitas nas inflorescências. Apenas *Monochoria australasica* (Pontederiaceae) apresenta inflorescências com flores apenas direitas e inflorescências com flores apenas esquerdas, sendo essa espécie o único exemplo conhecido de enantiostilia monomórfica à nível de inflorescência (Jesson & Barrett 2003).

Além das espécies de *Cyanella* (Tecophilaceae), com relatos conflitantes de enantiostilia dimórfica, apenas as famílias Haemodoraceae com *Wachendorfia thyrsiflora*, *W. brachyandra*, *W. paniculata* e *W. parviflora* (Jesson & Barrett 2002a) e Pontederiaceae com *Heteranthera multiflora* (Jesson & Barrett 2002c) também

apresentam enantiostilia dimórfica, sendo portanto as Commelinids + Asparagales o único grupo no qual ocorre de fato enantiostilia dimórfica (Figura 2).

Dentro da família Gesneriaceae, *Saintpaulia ionantha* se destaca nos registros de enantiostilia. Essa espécie possui registros de enantiostilia monomórfica (Daniel 1953; Kolehmainen 2008, 2010) e dimórfica (Ferrer et al. 2011), contudo, após conferência de referências, constatamos que *Saintpaulia ionantha* parece ser realmente enantiostílica monomórfica mantendo a ocorrência de enantiostilia dimórfica apenas entre as monocotiledôneas

Apesar de pouco se saber sobre as origens e manutenção da enantiostilia, Jesson & Barrett (2002b) encontraram que em *Heteranthera multiflora* (Pontederiaceae), a enantiostilia dimórfica é controlada por um único locus mendeliano dialélico com deflexão do morfo direito dominante sobre o morfo esquerdo. Algumas espécies como *Barbaretta aurea* e *Wachendorfia thyrsiflora* são descritas como enantiostílicas dimórficas, contudo em algumas de suas populações há a ocorrência de enantiostilia monomórfica. Nestas populações a enantiostilia monomórfica é uma consequência de eventos de dispersão com efeito do fundador e também devido à extensa ocorrência de clonalidade entre os indivíduos (Jesson & Barrett 2003). Pontederiaceae apresenta enantiostilia em 10 espécies de *Heteranthera* sendo *Heteranthera multiflora* a única com enantiostilia dimórfica além de 3 espécies de *Monochoria* todas com enantiostilia monomórfica.

É interessante também notar que as espécies relatadas como enantiostílicas dimórficas são monocotiledôneas e possuem como característica em comum o mesmo fato de serem plantas de pequeno porte e, geralmente, abrirem poucas flores por dia. Não existe relato de nenhuma família que possua enantiostilia dimórfica de fato, e não apenas funcional, e que não tenha representantes monomórficos no clado (Haemodoraceae, Pontederiaceae e Tecophilaeaceae são as únicas famílias que apresentam enantiostilia dimórfica). Isso também reforça a ideia de Jesson et al. (2003b) de que a enantiostilia dimórfica se origina de uma condição monomórfica pré-existente.

A questão sobre se a enantiostilia dimórfica surge posteriormente à monomórfica, pode ser avaliada com base na nossa reconstrução filogenética e posterior reconstrução de carácter. Ela revelou as relações entre as espécies presentes em Commelinids + Asparagales e elucidou a origem da enantiostilia monomórfica e dimórfica na maioria das espécies desse grupo (Figura 2).

Enquanto que na maioria das análises entre os nós de dentro do grupo Commelinids + Asparagales prevalece uma maior probabilidade do carácter ancestral nos nós ser a ausência de enantiosília quando comparado com enantiosília monomórfica e a presença de enantiosília monomórfica quando comparado com dimórfica. Em *Cyanella alba* e *C. lutea*, há uma probabilidade bem parecida entre a probabilidade do carácter ancestral ser tanto enantiosília monomórfica quanto dimórfica, entre 41% e 44% de probabilidade para cada (Tabela 1). As probabilidades do carácter ancestral encontram-se na Figura 2 (enantiosília dimórfica) e na Tabela 1 (enantiosília monomórfica e demais relações ao longo dos ramos).

Em Haemodoraceae, a análise entre *Wachendorfia thyrsoflora* e *Dilatris corymbosa* revelou que existe uma maior probabilidade do carácter ancestral entre as duas ter sido a enantiosília monomórfica e então a ocorrência de enantiosília dimórfica apresentada em *W. thyrsoflora* possivelmente tenha passado por um estágio de enantiosília monomórfica. Já a análise entre *Heteranthera zosterifolia* (cuja sequência foi utilizada para representar *Heteranthera multiflora*) e *Monochoria korsakowii* revelou que a maior probabilidade é de que o carácter ancestral seja a ausência de enantiosília e então os estados monomórfico e dimórfico do carácter terem se desenvolvido respectivamente em *Monochoria korsakowii* e *Heteranthera zosterifolia*. Contudo a ausência da enantiosília monomórfica precedendo a dimórfica pode ser explicado justamente pelo uso de *H. zosterifolia* para substituir *H. multiflora* na reconstrução filogenética, já que *H. multiflora*, que é conhecidamente enantiosílica dimórfica (Jesson & Barrett 2002c), não possuía sequência disponível no GenBank e desta forma utilizamos uma espécie do mesmo gênero da qual não temos a informação se apresenta enantiosília monomórfica ou dimórfica, mas é sabido que o gênero *Heteranthera* apresenta enantiosília, ao menos monomórfica de um modo geral (Jesson & Barrett 2002c). Em todas as demais comparações entre espécies da mesma família que apresentam enantiosília monomórfica e ausência de enantiosília, o carácter ancestral de maior probabilidade sempre foi a ausência de enantiosília reforçando a idéia de que a enantiosília surgiu independentemente várias vezes na história evolutiva das Angiospermas (Jesson & Barrett 2003a).

Em enantiosília diversas espécies apresentam heteranteria como espécies de Pontederiaceae, tais como *Cyanella alba* e *C. lutea* (Dulberger & Orndulf 1980) e *Monochoria korsakowii* (Wang et al. 1998), de Solanaceae como *Solanum rostratum* e *S. citrullifolium* (Bohs et al. 2007; Sólis-Monteiro & Vallejo-Marín 2017) e espécies da

tribo Cassiinae na família Fabaceae como espécies dos gêneros *Senna*, *Cassia* e *Chamaecrista* (Bahadur et al. 1990; Marazzi et al. 2007; Arcéo-Gomez et al. 2012). A heteranteria parece estar mesmo relacionada à enantiostilia, Vallejo-Marin et al. (2010) encontrou um forte suporte para a evolução correlacionada de heterantheria e enantiostilia. A presença de anteras poricidas também ocorre em Cassiinae, *Solanum* e *Cheiranthra* (Faegri 1986). Além disso, muitas espécies, especialmente enantiostílicas monomórficas, apresentam sistema de incompatibilidade como em *Qualea schomburgkiana*, *Q. parviflora*, *Q. multiflora*, *Q. grandiflora*, *Q. cordata*, *Callisthene* sp. (Oliveira 1998; Rodríguez & Sanoja 2008), *Wachendorfia paniculata* (Orndulf & Dulberger 1978) e *Cyanella alba* e *C. lutea* (Dulberger & Orndulf 1980) que é um aliado na prevenção de auto fecundação.. E em geral as espécies que não apresentam sistema de incompatibilidade como em *Maranta leuconeura* (Azevedo 2014), *Solanum rostratum* e *S. citrullifolium* (Bohs et al. 2007; Sólis-Monteiro & Vallejo-Marín 2017), *Monokoria korsakowii* (Wang et al. 1998) e espécies da subtribo Cassiinae (Almeida et al. 2013a,b, 2015a,b), são espécies arbustivas e subarbustivas, com poucas flores por dia, o que diminui a quantidade de visitas consecutivas pelos polinizadores e minimiza a transferência de autopólen.

A enantiostilia monomórfica, ainda que seja menos efetiva no fluxo de pólen entre indivíduos quando se comparada à enantiostilia dimórfica, parece ser ainda bastante vantajosa na transferência de pólen entre indivíduos, até porque o fato de ter metade das flores de um morfo e metade do outro, dificultando o fluxo entre flores de mesmo morfo, diminui à metade a transferência de pólen entre flores do mesmo indivíduo. Além disso, muitas espécies apresentam sistemas de incompatibilidade que reduz a frutificação quando as flores são polinizadas por pólen do mesmo indivíduo, então a hercogamia da enantiostilia somada ao sistema de incompatibilidade, especialmente em espécies arbóreas, com muitas flores ao dia, parece ser bastante efetivo em evitar a autopolinização/geitonogamia em espécies enantiostílicas ainda que monomórficas, fazendo com que esse polimorfismo se mantenha nas espécies tanto quanto a enantiostilia dimórfica. Contudo se faz necessário mais estudos sobre a funcionalidade da enantiostilia nos diversos grupos de Angiospermas nos quais ela ocorre e dessa forma elucidar a forma como a enantiostilia permanece nas populações vegetais.

Essa revisão de ocorrência de enantiostilia monomórfica e dimórfica entre as Angiospermas nos permitiu atualizar as informações sobre a quantidade de ocorrências

até o momento registradas e reforçar a informação acerca da prevalência da enantiostilia monomórfica sobre a ocorrência da dimórfica bem como a restrição da dimórfica apenas entre as monocotiledôneas. Além disso, nossos estudos sugerem que a enantiostilia dimórfica realmente surgiu após a enantiostilia monomórfica.

Literatura citada

- Almeida NM, Castro CC, Leite AV, Novo RR, Machado IC. 2013a. Enantiostyly in *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): floral morphology, pollen transfer dynamics and breeding system. *Plant Biology* 15: 369-375.
- Almeida NM, Castro CC, Leite AV, Novo RR, Machado IC. 2013b. Floral polymorphism in *Chamaecrista flexuosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): a possible case of atypical enantiostyly? *Annals of Botany* 112: 1117–1123.
- Almeida NM, Bezerra TT, Oliveira CRS, Novo RR, Siqueira-Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2015a. Breeding systems of enantiostylous Cassiinae species (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Flora* 215: 9-15.
- Almeida NM, Cotarelli VM, Souza DP, Novo RR, Siqueira Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2015b. Enantiostylous types of Cassiinae species (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Plant Biology* 17: 740-745.
- Almeida NM, Siqueira Filho JA, Oliveira PE, Novo RR, Castro CC. 2016. Bicarpellate gynoecium in two species of *Senna* (Fabaceae, Caesalpinioideae, Cassiinae). *Acta Botanica Brasilica* 30(2): 326-328.
- Almeida NM, Souza JT, Oliveira CRS, Bezerra TT, Novo RR, Siqueira-Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2018. Functional dimorphic enantiostyly in monomorphic enantiostylous species of the subtribe Cassiinae (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Plant Biology* 20: 797–801.
- Amorin T, Marazi B, Soares AA, Forni-Martins ER, Muniz CR, Westerkamp C. 2017. Ricochet pollination in *Senna* (Fabaceae) - petals deflect pollen jets and promote division of labour among flower structures. *Plant Biology* 19(6): 951-962.
- Anderson GJ, Bernardello G, Santos-Guerra A. 2015. Reproductive biology of *Solanum vespertilio* (Solanaceae), a zygomorphic, heterantherous, enantiostylous, and andromonoecious rare Canary Islands endemic. *Plant Systematic and Evolution* 301:1191–1206.

- Anderson GJ, Bernardello G, Bohs L, Weese T, Santos-Guerra A. 2016. Phylogeny and biogeography of the Canarian *Solanum vespertilio* and *S. lidii* (Solanaceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63(2): 159-167.
- APG IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1-20.
- Arceo-Gómez G, Martínez ML, Parra-Tabla V, García-Franco JG. 2010. Anther and stigma morphology in mirror-image flowers of *Chamaecrista chamaecristoides* (Fabaceae): implications for buzz pollination. *Plant Biology* 13(Suppl. 1): 19-24.
- Arceo-Gómez G, Martínez ML, Parra-Tabla V, García-Franco JG. 2012. Floral and reproductive biology of the Mexican endemic *Chamaecrista chamaecristoides* (Fabaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society* 139(3): 260-269.
- Aveiro SMG. 1997. Biologia da reprodução e crescimento inicial de *Qualea cordata* Spreng (Vochysiaceae), uma espécie arbórea do Cerrado. Tese Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP.156 f.
- Azevedo 2014. Sistemas Reprodutivos em espécies não-arbóreas de fragmento de floresta atlântica do sudeste brasileiro: diversidade, frequência e condições derivadas.
- Bahadur B, Chaturvedi A, Swamy NR. 1990. SEM studies of pollen in relation to enantiostyly and heterantery in *Cassia* (Caesalpinaceae). *Journal of Palynology* 91: 7-22.
- Barbosa AAA. 1983. Aspectos da Ecologia Reprodutiva de três espécies de *Qualea* (Vochysiaceae) num Cerrado de Brasília – DF. Dissertação Universidade de Brasília, Departamento de Botânica, Brasília/DF.
- Barrett SCH. 1988. The evolution, Maintenance, and loss of self-incompatibility Systems. *Plant Reproductive Ecology*. In: *Plant Reproductive Ecology: Patterns and Strategies*. Oxford University, New York.
- Barrett SCH, Jesson LK, Baker AM. 2000. The Evolution and Function of Stylar Polymorphisms in Flowering Plants. *Annals of Botany*. 85(Supplement A): 253-265.
- Barrett SCH. 2002a. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics*. 3: 274–284.
- Barrett SCH. 2002b. Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88: 154–159.

- Barros MAG. 1996. Biologia reprodutiva e polinização de espécies simpátricas de *Diplusodon* (Lythraceae). *Acta Botânica Mexicana* 37: 11-21.
- Berger BA, Kriebel R, Spalink D, Sytsma KJ. 2016. Divergence times, historical biogeography, and shifts in speciation rates of Myrtales. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 95: 116–136.
- Bezerra 2008. Guilda de flores de oleo do parque nacional do Catimbau: fenologia, polinização e sistema reprodutivo. Tese Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Botânica, Recife/PE. 173f.
- Bina H, Yousefzadeh H, Ali SS, Esmailpour M. 2016. Phylogenetic relationships, molecular taxonomy, biogeography of *Betula*, with emphasis on phylogenetic position of Iranian populations. *Tree Genetics & Genomes* 12: 84.
- Bohs L, Weese T, Myers N, Lefgren V, Thomas N, van Wagenen A, Stern S. 2007. Zygomorphy and Heteranthery in *Solanum* in a Phylogenetic Context. *Acta Horticulturae* 745: 201-224.
- Borges 2000. Biologia Reprodutiva de espécies lenhosas de leguminosae na Caatinga. Tese Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Botânica, Recife/PE. 105f.
- Bowers KAW. 1975. The Pollination Ecology of *Solanum rostratum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* 62(6): 633-638.
- Carvalho DA, Oliveira PE. 2003. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell.) H.S. Irwin & Barneby (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 26(3): 319-328.
- Costa CG. 1984. *Cassia cana* Nees et Mart. (Leguminosae-Caesalpinioideae) II. Vascularização floral e considerações sobre o relacionamento planta-inseto. *Rodriguésia* 36(58): 73-80.
- Costa CBN, Lambert SM, Borba EL, De Queiroz LP. 2007. Post-zygotic Reproductive Isolation Between Sympatric Taxa in the *Chamaecrista desvauxii* Complex (Leguminosae–Caesalpinioideae). *Annals of Botany* 99: 625–635.
- Custódio LN. 2011. Ecologia reprodutiva de espécies de *Callisthene* e *Qualea* (Vochysiaceae): aborto, poliembrionia e predação de sementes. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG 93f.
- Daniel MK. 1953. Enantiostyly in *Saitpaulia*. *Proceedings of the Pennsylvania Academy of Science*. 27: 61-64.

- De Luca PA, Bussière LF, Souto-Vilaros D, Goulson D, Mason AC, Vallejo-Marín M. 2013. Variability in bumblebee pollination buzzes affects the quantity of pollen released from flowers. *Oecologia* 172: 805–816.
- Del Vitto LA, Petenatti EM. 2015. Sobre la presencia de *Solanum rostratum* (Solanaceae) en Sudamérica: una neófita tóxica de gran potencial como maleza. Tomo 47(2): 109-121.
- Dulberger R, Orndulf R. 1980. Floral morphology and reproductive biology of four species of *Cyanella* (Tecophilaeaceae). *New Phytologist* 86: 45-56.
- Dulberger R. 1981. The Floral Biology of *Cassia didymobotrya* and *C. auriculata* (Caesalpiniaceae). *American Journal of Botany* 68(10): 1350-1360.
- Dulpont YL, Olesen JM. 2006. Andromonoecy and buzz pollination in *Solanum* species (Solanaceae) endemic to the Canary Islands. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 63(1): 63-66.
- Dutra VF, Vieira MF, Garcia FCP, Lima HC. 2009. Fenologia reprodutiva, síndromes de polinização e dispersão em espécies de Leguminosae dos campos rupestres do Parque Estadual do Itacolomi, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia* 60(2): 371-387.
- Eckenwalder JE, Barrett SCH. 1986. Phylogenetic systematics of Pontederiaceae. *Systematic Botany* 11(3): 373-391.
- Edgar RC, 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32(5): 1792-1797.
- Endress PK. 1999. Symmetry in flowers: diversity and evolution. *International Journal of Plant Science*. 160(6 Suppl.): S3–S23.
- Endress PK. 2012. The Immense Diversity of Floral Monosymmetry and Asymmetry Across Angiosperms. *Botanical Review* 78: 345–397.
- Endress, PK; Doyle, JA. 2009. Reconstructing the ancestral angiosperm flower and its initial specializations. *American Journal of Botany* 96(1): 22–66.
- Evans TM, Faden RB, Simpson MG, Sytsma KJ. 2000. Phylogenetic Relationships in the Commelinaceae: I. A Cladistic Analysis of Morphological Data. *Systematic Botany* 25(4): 668-691.
- Faden RB. 2001. New Taxa of *Murdannia* (Comelinaceae) from Sri Lanka. *Novon* 11(1): 22-30.
- Faegri K. 1986. The solanoid flower. *Transactions of the Botanical Society of Edinburgh* 45(S1): 51-59.

- Fenster CB. 1995. Mirror Image Flowers and their Effect on Outcrossing Rate in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 82(1): 146-50.
- Ferrer MM, Cen BEM, Roberto MEC, Tec LAC, Martínez CAH, Kan AEM, Uc YJM, Uicab LRS, Canché MGT. 2011. Las diferentes formas de las flores: pistilos cambiantes, o de cómo volar entre espejos o ser una especie flexible. *Bioagrobiociências* 4(1): 6-17.
- Gao JY, Ren, PY, Yang ZH, Li QJ. 2006. The Pollination Ecology of *Paraboea rufescens* (Gesneriaceae): a Buzz-pollinated Tropical Herb with Mirror-image Flowers. *Annals of Botany* 97: 371–376.
- Gardner DC, Robertson KR. 2000. Effects of annual burning on populations of *Cassia fasciculata* (Fabaceae - Caesalpinoideae) with a review of its systematics and biology. *Erigenia* 18: 22-29.
- Gottsberger G, Camargo JMF, Silberbauer-Gottsberger I. 1988. A bee pollinated tropical community: The beach dune of Ilha de São Luís, Maranhão, Brazil. *Bot. Jarhb. Syst.* 109(4): 469-500.
- Graham SW, Barrett SCH. 1995. Phylogenetic Systematics of Pontederiales. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ. 1995. *Monocotyledons: Systematic and Evolution* 415-441. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Harrisson CJ, Ller MM, Cronk QCB. 1999. Evolution and Development of Floral Diversity in *Streptocarpus* and *Saintpaulia*. *Annals of Botany* 84: 49-60.
- Helme NA, Linder HP. 1992. Morphology, evolution and taxonomy of *Wanchendorfia* (Haemodoraceae). *Bothalia* 22(1): 59-75.
- Hohmann N, Wolf EM, Lysak MA, Koch MA. 2015. A Time-Calibrated Road Map of Brassicaceae Species Radiation and Evolutionary History. *The Plant Cell* 27: 2770–2784.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17(8): 754-5.
- Irwin HS, Barneby RC. 1976. Notes on the generic status of *Chamaecrista* Moench (Leguminosae: Caesalpinoideae). *Brittonia* 28: 28-36.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002a. Enantiostyly in *Wachendorfia* (Haemodoraceae): The influence of reproductive systems on the Maintenance of the polymorphism. *American Journal of Botany* 89(2): 253–262.

- Jesson LK, Barrett SCH. 2002b. Solving the puzzle of mirror-image flowers. *Nature* 417:707.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002c. The genetics of mirror-image flowers. *Proceeding and Resourch Society of London B* 269: 1835–1839.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Science* 164(5 Suppl.): 237–249.
- Jesson LK, Barrett SCH, Day T. 2003a. A Theoretical Investigation of the Evolution and Maintenance of Mirror-Image Flowers. *The American Naturalist* 161(6): 916–930.
- Jesson LK, Kang J, Wagner SL, Barrett SCH, Dengler NG. 2003b. The Development of Enantiostyly. *American Journal of Botany* 90(2): 183–195.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2005. Experimental tests of the function of mirror-image flowers. *Biological Journal of the Linnean Society* 85:167–179.
- Joy JB, Liang RH, McCloskey RM, Nguyen T, Poon AFY. 2016. Ancestral Reconstruction. *PLoS Computational Biology* 12(7): e1004763.
- Kolehmainen J, Korpelainen H. 2008. Morphotypes, varieties, or subspecies?: genetic diversity and differentiation of four *Saintpaulia* (Gesneriaceae) morphotypes from the East Usambara Mountains, Tanzania. *Botanical Journal of the Linnean Society* 157: 347–355.
- Kolehmainen JK, Mutikainen P. 2006. Reproductive ecology of three endangered African violet (*Saintpaulia* H. Wendl.) species in the East Usambara Mountains, Tanzania. *African Journal of Ecology* 44: 219–227.
- Kolehmainen 2008. Ecology, population genetics and conservation of the African Violet (*Saintpaulia*, Gesneriaceae). Department of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki, Finland. 34f.
- Kolehmainen J, Korpelainen H, Mutikainen P. 2010. Inbreeding and inbreeding depression in a threatened endemic plant, the African violet (*Saintpaulia ionantha* ssp. *grotei*), of the East Usambara Mountains, Tanzania. *African Journal of Ecology* 48: 576–587.
- Laporta C. 2004. Floral biology and reproductive system of enantiostylous *Senna corymbosa* (Caesalpiniaceae). *Rev. biol. trop* 53(1-2): 49-61.
- Levin M, Palmer AR. 2007. Left–right patterning from the inside out: widespread evidence for intracellular control. *BioEssays* 29: 271–287.

- Levin RA, Myers NR, Bohs L. 2006. Phylogenetic relationships among the “spiny solanums” (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). *American Journal of Botany* 93(1): 157–169.
- Lu 2014. Revision of *Codonoboea* sect. *Boeopsis* and sect. *Salicini* (Gesneriaceae) in peninsular Malaysia. Tese Faculty of Science, University of Malaya, Kuala Lumpur. 275f.
- Maddison WP, Maddison DR. 2018. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.51. <http://www.mesquiteproject.org>
- Marazzi B, Endress PK. 2008. Patterns and development of floral asymmetry in *Senna* (Leguminosae, Cassiinae). *American Journal of Botany* 95(1): 22–40.
- Marazzi B. 2011. Nectarless Flowers and Leaves with Extrafloral Nectaries: Insights from the legume genus *Senna*. *The Plant Press Arizona Native Plant Society* 35(1): 4-5.
- Marazzi B, Endress PK, Queiroz LP, Conti E. 2006. Phylogenetic relationships within *Senna* (Leguminosae, Cassiinae) based on three chloroplast DNA regions: patterns in the evolution of floral symmetry and extrafloral nectaries. *American Journal of Botany* 93(2): 288–303.
- Marazzi B, Conti E, Endress PK. 2007. Diversity in anthers and stigmas in the buzz-pollinated Genus *Senna* (Leguminosae, Cassiinae). *International Journal of Plant Science* 168(4): 371–391.
- Martinon 2008. Estructura y diversidad genética de *Chamaecrista chamaecristoides* (COLLADON) I. & B: Una Leguminosa Pionera de Las dunas costeras de México.
- Martins DJ. 2008. Pollination observation of the African Violet In the Taita Hills, Kenya. *Journal of East African Natural History* 97(1): 33-42.
- Mesquita-Neto JN, Costa BKP, Schlindwein C. 2017. Heteranthery as a solution to the demand for pollen as food and for pollination – Legitimate flower visitors reject flowers without feeding anthers. *Plant Biology* 19: 942–950.
- Mora-Carrera E, Castañeda-Zárate M, Fornoni J, Boege K, Domínguez CA. 2018. On the adaptive value of monomorphic versus dimorphic enantiostyly in *Solanum rostratum*. *Annals of Botany* XX: 1–8.
- Nandikar MD, Gurav RV. 2015. Revision of the genus *Murdannia* (Commelinaceae) in India. *Phytodiversity* 2(1): 56-112.

- Neal PR, Dafni A, Giurfa M. 1998. Floral symmetry and its role in plant-pollinator systems: Terminology, distribution, and hypotheses. *Annual review of ecology and systematics* 29: 345–73.
- Ness RW, Graham SW, Barrett SCH. 2011. Reconciling gene and genome duplication events: Using multiple nuclear gene families to infer the phylogeny of the aquatic plant family Pontederiaceae. *Molecular Biology and Evolution* 28(11): 3009-3018.
- Ojeda I, Francisco-Ortega J, Cronk QCB. 2009. Evolution of petal epidermal micromorphology in Leguminosae and its use as a marker of petal identity. *Annals of Botany* 104: 1099–1110.
- Oliveira PE, Gibbs PE. 2000. Reproductive biology of wood plants in a cerrado community of Central Brazil. *Flora* 195: 311-329.
- Oliveira PE. 1996. Biologia floral de *Salvertia convallariodora* (Vochysiaceae): Uma espécie de Cerrado polinizada por Mariposas. *Revista Brasileira de Botânica* 19(1): 49-53.
- Oliveira PE. 1998. Reproductive Biology, Evolution and taxonomy of the Vochysiaceae in the Central Brasil. *In: Owens SJ, Rudall PJ. Reproductive Biology.* 381-393.
- Oliveira PE, Gibbs PE, Barbosa AA. 2004. Moth pollination of woody species in the Cerrados of Central Brazil: a case of so much owed to so few? *Plant Systematic and Evolution* 245: 41–54.
- Oliveira-Rebouças 2011. Potential pollinators of *Comolia ovalifolia* DC Triana (Melastomataceae) and *Chamaecrista ramosa* (Vog.) H.S. Irwin and Barneby var. *ramosa* (Leguminosae-Caesalpinioideae), in restinga, Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 71(2): 343-351.
- Omland 1999. The Assumptions and Challenges of Ancestral State Reconstructions. *Systematic Biology* 48(3): 604–611.
- Orndulf R, Dulberger R. 1978. Floral enantiomorphy and the reproductive system of *Wachendorfia paniculata* (Haemodoraceae). *New Phytologist* 80: 427-434.
- Ornduff R. 1979. Chromosome Numbers and Relationships of Certain African and American Genera of Haemodoraceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 66(3): 577-580.
- Ott D, Hühn P, Claßen-Bockhoff R. 2016. *Salvia apiana* — A carpenter bee flower? *Flora* 221: 82-91.
- Palmer AR. 2016. What determines direction of asymmetry: genes, environment or chance? *Philosophical Transactions B* 371: 1-16.

- Pellegrini MOO, Horn CN, Almeida RF. 2018. Total evidence phylogeny of Pontederiaceae (Commelinales) sheds light on the necessity of its recircumscription and synopsis of *Pontederia* L. *PhytoKeys* 108: 25–83.
- Pickrell J. 2002. Mirror Image Flowers with opposite styles have a fling. *Science* 161: 372-373.
- Pinheiro-Costa BK, Mesquita-Neto JN, Rego JO, Schlindwein C. 2018. Trade off between quantity and size of pollen grains in the heterandrous flowers of *Senna pendula* (Fabaceae). *Acta Botanica Brasilica* 32(3): 446-453.
- Pinter M, Crespo MB, Ilg I, Luidold AK, Martínez-Azorín M, Müller-Doblies U, Müller-Doblies D, Pfosser M, Wetschnig W. 2013. *Mucinaea* (Hyacinthaceae-Urgineoideae), a Remarkable New Genus from Namaqualand (Northern Cape Province, South Africa). *Phyton* 53(2): 289–304.
- Prohens J, Herraiz FJ, Nuez F, Anderson GJ, Santos-Guerra A, Bernardello G, Crawford D. 2006. AFLP Diversity among and within Populations of the Insular, Endemic and Endangered *Solanum vespertilio* and *S. lidii*. *Acta Horticulturae* 745: 311-318.
- Prohens J, Gregory J, Anderson GJ, Herraiz FJ, Bernardello G, Santos-Guerra A, Crawford D, Nuez F. 2007. Genetic diversity and conservation of two endangered eggplant relatives (*Solanum vespertilio* Aiton and *Solanum lidii* Sunding) endemic to the Canary Islands. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 451-464.
- Raju AJS, Reddi CS. 2000. Foraging behaviour of carpenter bees, genus *Xylocopa*: Xilocopidae, Hymenoptera, and the pollination of some indian plants. *Bombay Natural History Society* 97(3): 381-389.
- Reddi CS, Aluri RJS, Atluri JB. 1997. Pollination Ecology and Pollination Systems in Economic tree species. In: *Perspectives in Indian apiculture*. Agro Botanica.
- Ren M-X. 2015. The upper reaches of the largest river in Southern China as an “evolutionary front” of tropical plants: Evidences from Asia-endemic genus *Hiptage* (Malpighiaceae). *Collectanea Botanica* 34(e003): 1-13.
- Ren M-X, Zhong Y-F, Song X-Q. 2013. Mirror-image flowers without buzz pollination in the Asian endemic *Hiptage benghalensis* (Malpighiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 173: 764–774.
- Rodríguez L, Sanoja E. 2004. Aspectos de la biología reproductiva de *Erisma uncinatum* Warm., (Vochysiaceae), la primera especie maderable del estado bolívar, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelana* 27(1): 23-33.

- Rodríguez L, Sanoja E. 2008. Fenología, biología floral de polinización de especies de la familia Vochysiaceae en la Guayana Venezolana. *Acta Botanica Venezuelana* 31: 331-366.
- Rudall et al. 1995. *Monocotyledons: Systematic and Evolution* 415-441. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Santos ML. 1997. Biología floral de duas espécies de Vochysiaceae em um Cerrado sobre afloramento basáltico em Araguari, MG. Dissertação Universidade de Brasília, Departamento de Botânica, Brasília/DF. 93f.
- Sauquet H, Balthazar M, Magallón S. 2017. The ancestral flower of angiosperms and its early diversification. *Nature Communications* 8:16047 1-10.
- Scott SM, Middleton DJ. 2014. A revision of *Ornithoboea* (Gesneriaceae). *Gardens' Bulletin Singapore* 66(1): 73–119.
- Shimizu GH. 2016. Phylogenetic, taxonomic and nomenclatural studies in Vochysiaceae and synopsis of *Vochysia* in Brazil. Tese Universidade de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas/SP. 126f.
- Shivanna KR. 2015. Pollination Strategies of Some Perennial Weed Species. *Proc Indian Natn Sci Acad* 81(2): 485-492.
- Simpson MG. 1998. Reversal in Ovary Position from Inferior to Superior in the Haemodoraceae: Evidence from Floral Ontogeny. *International Journal of Plant Sciences* 159(3): 466-479.
- Soares SMNA, Kaehler TG, Araujo RB, Falconer D, Silva DP, Monteiro VM. 2012. Biología Floral, enantiostilia, sistema reproductivo e potenciais polinizadores de *Callisthene minor* Mart (Vochysiaceae), Chapada dos Veadeiros – Brazil. *Biologia e Ecologia da polinização. Curso de campo* 3: 89-97.
- Solís-Monteiro L, Vergara CH, Vallejo-Marín M. 2015. High incidence of pollen theft in natural populations of a buzz-pollinated plant. *Arthropod-Plant Interactions* 9(6): 599–611.
- Solís-Montero L, Vallejo-Marín M. 2017. 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* 7(7): 2706–2715.
- Sousa DJL, Giulietti AM. 2015. Flora da Bahia – Pontederiaceae. *Sitentibus série Ciências Biológicas* 14:
- Sousa DJL, Giulietti AM. 2016. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Pontederiaceae. *Rodriguésia* 67(5): 1459-1462.

- Sousa 2010. Antese de flores-de-pólen em dependência de chuva ou seca no semi-árido. Dissertação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE. Departamento de Biologia. 54f.
- Souza IM, Coutinho K, Funch LS. 2012. Estratégias fenológicas de *Senna cana* (Nees & Mart.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae: Caesalpinioideae) como mecanismo eficiente para atração de polinizadores. *Acta Botanica Brasilica* 26(2): 435-443.
- Stern SR, Weese T, Bohs LA. 2010. Phylogenetic Relationships in *Solanum* Section *Androceras* (Solanaceae). *Systematic Botany* 35(4): 885–893.
- Tang L-L, Huang S-Q. 2005. Variation in daily floral display and the potential for geitonogamous pollination in two monomorphic enantiostylous *Monochoria* species. *Plant Systematics and Evolution* 253: 201–207.
- Tang L-L, Huang S-Q. 2007. Evidence for reductions in floral attractants with increased selfing rates in two heterandrous species. *New Phytologist* 175(3): 588-595.
- Thomas RP, Paul J. 2015. Notes on Recent Species Bursts in *Murdannia* (Commelinaceae) From India. *Indian Journal of Applied Research* 5(7): 423-425.
- Thorp RW, Estes JR. 1975. Intrafloral behavior of bees on flowers of *Cassia fasciculata*. *Journal of the Kansas Entomological Society* 48(2): 175-184.
- Todd JE. 1882. On the Flowers of *Solanum rostratum* and *Cassia chamaecrista*. *The American Naturalist* 16(4): 281-287.
- Torres 2009. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna multijuga* no Parque Nacional de Itatiaia e na Área de Proteção Ambiental da Serrinha do Alambari. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Escola Nacional de Botânica Tropical, Rio de Janeiro/RJ. 49f.
- Torres MW, Aximoff IA, Ferreira MHS, Guerra TJ. 2007. Aspects of floral biology of buzz pollinated *Senna cana* (Leguminosae: Caesalpinioideae) in a rupestrian field in Mucugê, BA. *Anais de congresso*.
- Triboun P, Middleton DJ. 2012. Twenty new species of *Paraboea* (Gesneriaceae) from Thailand. *Gardens' Bulletin Singapore* 64(2): 333–370.
- Vallejo-Marín M, Da Silva EM, Sargent RD, Barrett SCH. 2010. Trait correlates and functional significance of heteranthery in flowering plants. *New Phytologist* 188: 418–425.
- Vallejo-Marín M, Solís-Montero L, Souto Vilaros D, Lee MYQ. 2012. Mating system in Mexican populations of the annual herb *Solanum rostratum* Dunal (Solanaceae). *Plant Biology* 15: 948–954.

- Vallejo-Marín M, Walker C, Friston-Reilly P, Solís-Montero L, Iqbal 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: 20130256.
- Vallejo-Marín M, Manson JS, Thomson JD, Barrett SCH. 2009. Division of labour within flowers: heteranthy, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *Journal of Evolutionary Biology* 22: 828–839.
- Wan X-C, Wang G-X, Washitani I. 2004. Seed germination responses of *Monochoria korsakowii* Regel et Maack, a threatened paddy weed, to temperature and soil moisture. *Plant Species Biology* 19: 203–207.
- Wang G, Miura R, Kusanagi T. 1995. The enantiostyly and the pollination biology in *Monochoria korsakowii* (Pontederiaceae). *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 46(1): 55-65.
- Wang G, Yamasue Y, Itoha K, Kusanagi T. 1998. Outcrossing rates as affected by pollinators and the heterozygote advantage of *Monochoria korsakowii*. *Aquatic Botany* 62: 135-143.
- Wolowski M, Freitas L. 2010. Sistema reprodutivo e polinização de *Senna multijulga* (Fabaceae) em Mata Atlântica Montana. *Rodriguésia* 61(2): 167-179.
- Zhang W, Kramer EM, Davis CC. 2016. Differential expression of CYC2 genes and the elaboration of floral morphologies in *Hiptage*, an old world genus of Malpighiaceae. *International Journal of Plant Sciences* 177: 551-558.
- Zhang LJ, Lou AR. 2015. Pollen limitation in invasive populations of *Solanum rostratum* and its relationship to population size. *Journal of Plant Ecology* 8(2): 154–158.
- Zhang L, Yu L, Lou A. 2017. No evolutionary change in the mating system of *Solanum rostratum* (Solanaceae) during its invasion in China. *Scientific Reports* 7: 17698.

Anexo 1 – Espécies utilizadas para a reconstrução filogenética de Ordens contendo enantiostilia com os respectivos números de acesso no GenBank e os marcadores utilizados.

Ordem	Família	Espécie representante	Número de acesso no GenBank	
			<i>rbcl</i>	<i>matK</i>
Amborellales	Amborellaceae	<i>Amborella trichopoda</i>	L12628.2	DQ185522.1
Nymphaeales	Nymphaeaceae	<i>Nymphaea alba</i>	KM360898.1	JN894938.1
Austrobaileyales	Austrobaileyaceae	<i>Austrobaileya scandens</i>	L12632.2	DQ182344.1
Canellales	Canellaceae	<i>Canella winterana</i>	EU669508.1	DQ882240.1
Piperales	Piperaceae	<i>Piper nigrum</i>	EF591363.1	DQ882215.1
Magnoliales	Magnoliaceae	<i>Magnolia officinalis</i>	AY008933.1	AF548641.1
Laurales	Lauraceae	<i>Persea americana</i>	AY337727.1	AJ247179.2
Chloranthales	Chloranthaceae	<i>Chloranthus japonicus</i>	L12640.2	KP256024.1
Acorales	Acoraceae	<i>Acorus calamus</i>	J875015.1	EU814657.1
Alismatales	Alismataceae	<i>Sagittaria trifolia</i>	JF781056.1	JF781083.1
Petrosaviales	Petrosaviaceae	<i>Japonolirion osense</i>	JQ068978.1	AB040161.1
Dioscoreales	Dioscoreaceae	<i>Dioscorea bulbifera</i>	D28327.1	HQ637651.1
Pandanales	Pandanaceae	<i>Pandanus tectorius</i>	AY952439.1	AY952418.1
Commelinales	Haemodoraceae	<i>Dilatris corymbosa</i>	AM234986.1	EU499264.1
Zingiberales	Marantaceae	<i>Maranta leuconeura</i>	L05040.2	AY140303.1
Poales	Poaceae	<i>Poa trivialis</i>	AJ746301.1	HM850517.1
Arecales	Arecaceae	<i>Butia yatay</i>	AB088827.1	AB088794.1
Asparagales	Tecophilaeaceae	<i>Cyanella alba subsp. alba</i>	KC161484.1	KC161465.1
Liliales	Liliaceae	<i>Lilium japonicum</i>	AB034920.1	AB049514.1
Ceratophyllales	Ceratophyllaceae	<i>Ceratophyllum demersum</i>	AB917052.1	AF543732.1
Ranunculales	Ranunculaceae	<i>Ranunculus arcticus</i>	KC475653.1	JF509973.1

Ordem	Família	Espécie representante	Número de acesso no GenBank	
			<i>rbcl</i>	<i>matK</i>
Proteales	Proteaceae	<i>Roupala montana</i>	JQ594708.1	EU169661.1
Trochodendrales	Trochodendraceae	<i>Trochodendron aralioides</i>	GQ998840.1	U92848.1
Buxales	Buxaceae	<i>Buxus sempervirens</i>	DQ182333.1	AF543728.1
Gunnerales	Gunneraceae	<i>Gunnera manicata</i>	EU002279.1	EU002179.1
Dilleniales	Dilleniaceae	<i>Dillenia indica</i>	FJ860350.1	GQ997143.1
Saxifragales	Saxifragaceae	<i>Saxifraga aizoides</i>	KM360971.1	KC475819.1
Vitales	Vitaceae	<i>Vitis riparia</i>	KX951105.1	AF542593.2
Zygophyllales	Zygophyllaceae	<i>Zygophyllum fabago</i>	Y15030.1	JF956818.1
Fabales	Fabaceae	<i>Chamaecrista fasciculata</i>	U74187.1	AY386955.1
Rosales	Rosaceae	<i>Rosa multiflora</i>	KP088837.1	AB011991.1
Fagales	Fagaceae	<i>Quercus ilex</i>	AB125020.1	AB125037.1
Cucurbitales	Cucurbitaceae	<i>Cucurbita andreana</i>	HQ438628.1	HQ438590.1
Celastrales	Celastraceae	<i>Celastrus hindsii</i>	KT258937.1	EU328944.1
Oxalidales	Oxalidaceae	<i>Oxalis corniculata</i>	JN587331.1	AB233839.1
Malpighiales	Malpighiaceae	<i>Hiptage benghalensis</i>	AF344481.1	AF344551.1
Geraniales	Geraniaceae	<i>Geranium dissectum</i>	JX913459.1	HM850907.1
Myrtales	Vochysiaceae	<i>Qualea rosea</i>	JQ626047.1	JQ626462.1
Crossosomatales	Crossosomataceae	<i>Crossosoma bigelovii</i>	AY101844.1	HQ680694.1
Picramniales	Picramniaceae	<i>Picramnia polyantha</i>	AF127025.1	Não tem
Huerteales	Gerrardinaceae	<i>Gerrardina foliosa</i>	AY757086.1	FM179924.1
Malvales	Malvaceae	<i>Malva neglecta</i>	HQ590176.1	EU346788.1
Brassicales	Brassicaceae	<i>Brassica napus</i>	KU739562.1	AB354273.1
Berberidopsidales	Berberidopsidaceae	<i>Berberidopsis corallina</i>	EU002274.1	EU002171.1

Ordem	Família	Espécie representante	Número de acesso no GenBank	
			<i>rbcl</i>	<i>matK</i>
Satalales	Santalaceae	<i>Santalum album</i>	L26077.1	P263262.1
Caryophyllales	Caryophyllaceae	<i>Cerastium fontanum</i>	KM360705.1	FJ404829.1
Cornales	Cornaceae	<i>Cornus hongkongensis</i>	DQ340447.1	DQ341344.1
Ericales	Ericaceae	<i>Erica arborea</i>	P737710.1	KP737757.1
Icacinales	Icacinaceae	<i>Icacina mannii</i>	Q384929.1	HQ384577.1
Metteniusales	Metteniusaceae	<i>Metteniusa tessmanniana</i>	KT740836.1	KT738354.1
Garryales	Eucommiaceae	<i>Eucommia ulmoides</i>	L01917.2	AF345323.1
Gentianales	Gentianaceae	<i>Exacum affine</i>	L11684.1	FJ014087.1
Boraginales	Boraginaceae	<i>Borago officinalis</i>	KT740813.1	KT738333.1
Vahliales	Vahliaceae	<i>Vahlia capensis</i>	KT740861.1	AJ429316.1
Solanales	Solanaceae	<i>Solanum rostratum</i>	KT178123.1	KT176603.1
Lamiales	Gesneriaceae	<i>Paraboea swinhoei</i>	KX527130.1	KX526648.1
Aquifoliales	Aquifoliaceae	<i>Ilex wilsonii</i>	KX897111.1	HQ427294.1
Asterales	Asteraceae	<i>Vernonia baldwinii</i>	KT178107.1	KT176587.1
Escalloniales	Escalloniaceae	<i>Escallonia rubra</i>	KM360774.1	AJ429365.1
Bruniales	Bruniaceae	<i>Brunia fragarioides</i>	AY490985.1	AY490942.1
Paracryphiales	Paracryphiaceae	<i>Paracryphia alticola</i>	AJ402983.1	AJ429367.1
Dipsacales	Caprofoliaceae	<i>Zabelia biflora</i>	KP088924.1	GU168659.1
Apiales	Pittosporaceae	<i>Pittosporum tobira</i>	HM850261.1	U58624.1

Anexo 2 – Espécies utilizadas para a reconstrução filogenética de Commelinids + Asparagales com os respectivos números de acesso no GenBank e os marcadores utilizados. Caracter representa 0: ausência de enantioestilia; 1: presença de enantioestilia monomórfica e 2: presença enantioestilia dimórfica.

Ordem	Família	Espécie representante	Caracter	Número de acesso no GenBank	
				<i>Rbcl</i>	<i>matK</i>
Commelinales	Hanguanaceae	<i>Hanguana malayana</i>	0	AB088830.1	AB088800.1
Commelinales	Commelinaceae	<i>Murdannia nudiflora</i>	1	KJ773694.1	KJ772954.1
Commelinales	Commelinaceae	<i>Tradescantia pallida</i>	0	AM110254.1	AM114727.1
Commelinales	Philydraceae	<i>Philydrum lanuginosum</i>	1	U41596.2	LC050447.1
Commelinales	Philydraceae	<i>Philydrella pygmaea</i>	0	AF206808.1	AF434870.1
Commelinales	Pontederiaceae	<i>Monochoria korsakowii</i>	1	AB088828.1	AB088795.1
Commelinales	Pontederiaceae	<i>Heteranthera zostelifolia</i>	2	U41587.1	não tem
Commelinales	Pontederiaceae	<i>Eichhornia crassipes</i>	0	GU135143.1	GU134980.1
Commelinales	Haemodoraceae	<i>Wachendorfia thyrsiflora</i>	2	AF312266.1	EU499269.1
Commelinales	Haemodoraceae	<i>Dilatris corymbosa</i>	1	AM234986.1	EU499264.1
Commelinales	Haemodoraceae	<i>Anigozanthos flavidus</i>	0	AB088796.1	AB088796.1
Zingiberales	Strelitziaceae	<i>Strelitzia nicolai</i>	0	L05461.1	JQ027157.1
Zingiberales	Lowiaceae	<i>Orchidantha fimbriata</i>	0	AF243841.1	AF478910.1
Zingiberales	Heliconiaceae	<i>Heliconia tortuosa</i>	0	JQ594572.1	JQ589597.1
Zingiberales	Musaceae	<i>Musa acuminata</i>	0	EU017045.1	EU016987.1
Zingiberales	Cannaceae	<i>Canna tuerckheimii</i>	0	AF378764.1	JQ587189.1
Zingiberales	Marantaceae	<i>Calathea crotalifera</i>	0	AY656112.1	JQ341337.1
Zingiberales	Marantaceae	<i>Maranta leuconeura</i>	1	L05040.2	AY140303.1
Zingiberales	Costaceae	<i>Costus pulverulentus</i>	0	AF378776.1	AF478907.1
Zingiberales	Zingiberaceae	<i>Zingiber nimmonii</i>	0	KF304177.1	KJ872463.1
Poales	Poaceae	<i>Poa trivialis</i>	0	AJ746301.1	HM850517.1

Ordem	Família	Espécie representante	Caracter	Número de acesso no GenBank	
				<i>Rbcl</i>	<i>matK</i>
Poales	Typhaceae	<i>Typha latifolia</i>	0	DQ069503.1	AB088801.1
Poales	Bromeliaceae	<i>Bromelia pinguin</i>	0	JX649348.1	EU681899.1
Poales	Rapateaceae	<i>Epidryos allenii</i>	0	AY299764.1	AF162225.1
Poales	Xyridaceae	<i>Xyris montana</i>	0	KJ773991.1	KP083059.1
Poales	Eriocaulaceae	<i>Eriocaulon compressum</i>	0	KJ773484.1	KJ772760.1
Poales	Mayacaceae	<i>Mayaca fluviatilis</i>	0	AJ419948.1	KP083052.1
Poales	Thurniaceae	<i>Thurnia sphaerocephala</i>	0	MF786411.1	KP083068.1
Poales	Juncaceae	<i>Juncus effusus</i>	0	HQ182434.1	AB088803.1
Poales	Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	0	KJ773433.1	KX369513.1
Poales	Restionaceae	<i>Restio subverticillatus</i>	0	KF687174.1	KF452391.1
Poales	Flagellariaceae	<i>Flagellaria indica</i>	0	L12678.2	DQ257515.2
Poales	Joinvilleaceae	<i>Joinvillea plicata</i>	0	EF423010.1	DQ257535.2
Poales	Ecdeiocoleaceae	<i>Ecdeiocolea monostachya</i>	0	HQ182426.1	DQ257530.1
Arecales	Dasypogonaceae	<i>Dasypogon bromeliifolius</i>	0	HQ182425.1	AM114719.1
Arecales	Arecaceae	<i>Butia yatay</i>	0	AB088827.1	AB088794.1
Asparagales	Orchidaceae	<i>Dendrobium moniliforme</i>	0	AB519788.1	AB519775.1
Asparagales	Boryaceae	<i>Borya septentrionalis</i>	0	HM640533.1	HM640651.1
Asparagales	Blandfordiaceae	<i>Blandfordia punicea</i>	0	HM640532.1	AY557206.2
Asparagales	Asteliaceae	<i>Milligania stylosa</i>	0	HM640531.1	HM640649.1
Asparagales	Lanariaceae	<i>Lanaria lanata</i>	0	JF972916.1	JF972948.1
Asparagales	Hypoxidaceae	<i>Hypoxis hemerocallidea</i>	0	HM640539.1	HM640657.1
Asparagales	Doryanthaceae	<i>Doryanthes excelsa</i>	0	HM640534.1	HM640652.1
Asparagales	Ixioliriaceae	<i>Ixiolirion tataricum</i>	0	HM640543.1	HM640660.1
Asparagales	Tecophilaeaceae	<i>Tecophilaea cyanocrocus</i>	0	HM640544.1	HM640661.1
Asparagales	Tecophilaeaceae	<i>Cyanella alba subsp. alba</i>	2	KC161484.1	KC161465.1

Ordem	Família	Espécie representante	Caracter	Número de acesso no GenBank	
				<i>Rbcl</i>	<i>matK</i>
Asparagales	Tecophilaeaceae	<i>Cyanella lutea</i>	1	KC161489.1	KC161470.1
Asparagales	Iridaceae	<i>Iris ruthenica</i>	0	KC704849.1	FJ197296.1
Asparagales	Xeronemataceae	<i>Xeronema callistemon</i>	0	HM640547.1	JQ276431.1
Asparagales	Asphodelaceae	<i>Aloe lavranosii</i>	0	AY323647.1	AY323724.1
Asparagales	Amaryllidaceae	<i>Allium thunbergii</i>	0	JX903136.1	JX903547.1
Asparagales	Asparagaceae	<i>Asparagus aethiopicus</i>	0	GU135263.1	GU135097.1
Asparagales	Asparagaceae	<i>Drimia nana</i>	1	JX090440.1	JX090356.1
Liliales	Liliaceae	<i>Lilium japonicum</i>	0	AB034920.1	AB049514.1

Anexo 3 – Estudos feitos sobre enantiostilia e quantidade de taxa representados. Alguns trabalhos mencionam a presença de enantiostilia em gêneros, sem especificar a espécie. Tipo de Enantiostilia: M – Monomórfica; D – Dimórfica. *enantiostilia monomórfica, mas abre uma flor por dia sendo funcionalmente dimórfica. **espécie com relato de enantiostilia monomórfica e dimórfica. A família Hyacinthaceae foi incluída em Asparagaceae no APG IV.

Gêneros/Espécies	Tipo de Enantiostilia	Referências
COMMELINALES		
Commelinaceae		
<i>Amischotolype</i>	M	42; 53
<i>Coleotrype</i>	M	42; 53
<i>Commelina</i>	M	53
<i>Porandra</i>	M	42; 53
<i>Murdannia</i>	M	43
<i>Murdannia crocea</i>	M	72
<i>Murdannia japonica</i>	M	72
<i>Murdannia lanuginosa</i>	M	72
<i>Murdannia loriformis</i>	M	72
<i>Murdannia nimmoniana</i>	M	72
<i>Murdannia pauciflora</i>	M	72
<i>Murdannia sahyadrica</i>	M	114
<i>Murdannia simplex</i>	M	72
<i>Murdannia spirata</i>	M	39; 72
<i>Murdannia striatipetala</i>	M	72
<i>Murdannia vaginata</i>	M	72
<i>Murdannia versicolor</i>	M	72
Haemodoraceae		
<i>Barbaretta</i>	M; D	17; 56; 73; 83
<i>Barbaretta aurea</i>	D	42; 53; 99
<i>Haemodorum</i>	M	38; 42; 53
<i>Lachnanthes</i>	M	42; 53

Gêneros/Espécies	Tipo de Enantiostilia	Referências
<i>Dilatriis</i>	M	42; 56
<i>Dilatriis corymbosa</i>	M	17; 18; 53; 55
<i>Dilatriis pilansii</i>	M	53
<i>Dilatriis viscosa</i>	M	53
<i>Schiekia</i>	M	42; 46; 53; 56; 99
<i>Wachendorfia</i>	D	17; 56; 83; 99
<i>Wachendorfia brachyandra</i>	D	18; 42; 48; 52; 53
<i>Wachendorfia paniculata</i>	D	16; 17; 18; 42; 46; 48; 52; 53; 55; 73; 84
<i>Wachendorfia parviflora</i>	D	18; 48; 52; 53
<i>Wachendorfia thyrsiflora</i>	D	17; 18; 42; 48; 52; 53; 103
<i>Xiphidium xanthorrhizon</i>	M	46; 99
Phylidraceae		
<i>Philydrum</i>	M	37; 42
<i>Philydrum laniginosum</i>	M	53; 55; 99
Pontederiaceae		
<i>Heteranthera</i>	M; D	35; 42; 46; 56; 62; 82; 107; 108
<i>Heteranthera catharinensis</i>	M	87
<i>Heteranthera dubia</i>	M	53
<i>Heteranthera limosa</i>	M	17; 53; 55
<i>Heteranthera mexicana</i>	M	17; 53; 55
<i>Heteranthera multiflora</i>	D	17; 18; 42; 50; 51; 53; 55; 56; 74; 86
<i>Heteranthera pumila</i>	M	87
<i>Heteranthera reniformis</i>	M	46; 56; 99
<i>Heteranthera rotundifolia</i>	M	53; 55
<i>Heteranthera seubertiana</i>	M	74
<i>Heteranthera zosterifolia</i>	M	74
<i>Monochoria</i>	M	35; 42; 46; 56; 63; 73; 82
<i>Monochoria australasica</i>	M	53; 55

Gêneros/Espécies	Tipo de Enantiostilia	Referências
<i>Monochoria korsakowii</i>	M	17; 53; 55; 112; 113; 123; 124; 125
<i>Monochoria vaginalis</i>	M	46; 99; 112; 113
ZINGIBERALES		
Marantaceae		
<i>Maranta leuconeura</i>	M	13
ASPARAGALES		
Hyacinthaceae (Asparagaceae)		
<i>Mucinaea nana</i>	M	90
Tecophilaceae		
<i>Cyanella</i>	M	42; 73
<i>Cyanella alba</i> **	M; D	17; 31; 42; 46; 53; 56; 99
<i>Cyanella lutea</i> *	M	31; 46; 53; 55; 99
APIALES		
Pittosporaceae		
<i>Cheiranthra filifolia</i>	M	40
<i>Cheiranthra linearis</i>	M	40
DIPSACALES		
Caprifoliaceae		
<i>Centranthus</i>	M	36
SOLANALES		
Solanaceae		
<i>Solanum</i>	M	73
<i>Solanum citrullifolium</i>	M	21; 122
<i>Solanum fructo-tecto</i>	M	122
<i>Solanum grayi</i>	M	122
<i>Solanum lidii</i>	M	9; 33; 92

Gêneros/Espécies	Tipo de Enantiostilia	Referências
<i>Solanum rostratum</i>	M	17; 18; 21; 23; 29; 30; 42; 46; 50; 53; 54; 55; 56; 63; 71; 88; 105; 106; 111; 116; 120; 121; 122; 128; 129
<i>Solanum vespertilio</i>	M	8; 9; 33; 91; 92
GENTIANALES		
Gentianaceae		
<i>Exacum</i>	M	53
LAMIALES		
Gesneriaceae		
<i>Codonoboea densifolia</i>	M	64
<i>Codonoboea oreophila</i>	M	64
<i>Codonoboea tiumanica</i>	M	64
<i>Ornithoboea</i>	M	101
<i>Paraboea doitungensis</i>	M	119
<i>Paraboea rufescens</i>	M	43
<i>Saintpaulia</i>	M	42; 47; 56; 59
<i>Saintpaulia ionantha</i>	M	28; 42; 53; 57; 58; 60
<i>Saintpaulia teitensis</i>	M	69
<i>Streptocarpus</i>	M	42; 56
Lamiaceae		
<i>Salvia apiana</i>	M	85
MALPIGHIALES		
Malpighiaceae		
<i>Janusia anisandra</i>	M	20
<i>Hiptage benghalensis</i>	M	95; 96; 127
FABALES		
Fabaceae		

Gêneros/Espécies	Tipo de Enantiostilia	Referências
<i>Cassia</i>	M	42; 56; 73
<i>Cassia alata</i>	M	93
<i>Cassia angustifolia</i>	M	14
<i>Cassia auriculata</i>	M	14; 32; 102
<i>Cassia cana</i>	M	25
<i>Cassia chamaecrista</i>	M	116
<i>Cassia didymobotrya</i>	M	32; 46
<i>Cassia emarginata</i>	M	76
<i>Cassia fasciculata</i>	M	115
<i>Cassia marginata</i>	M	14
<i>Cassia occidentales</i>	M	14
<i>Cassia siamea</i>	M	14
<i>Cassia spectabilis</i>	M	14
<i>Cassia torta</i>	M	14
<i>Chamaecrista</i>	M	42; 56
<i>Chamaecrista amiciella</i>	M	3; 4; 6
<i>Chamaecrista calycioides</i>	M	4; 6
<i>Chamaecrista chamaecrista</i>	M	49
<i>Chamaecrista</i> <i>chamaecristoides</i>	M	10; 11; 68
<i>Chamaecrista curvifolia</i>	M	109
<i>Chamaecrista dentata</i>	M	34
<i>Chamaecrista desvauxii</i>	M	26; 75
<i>Chamaecrista fasciculata</i>	M	41; 44; 53
<i>Chamaecrista flexuosa</i>	M	2; 3
<i>Chamaecrista hedysaroides</i>	M	34
<i>Chamaecrista hispidula</i>	M	45
<i>Chamaecrista mucronata</i>	M	34
<i>Chamaecrista ramosa</i>	M	1; 3; 81
<i>Chamaecrista repens</i>	M	3; 6
<i>Chamaecrista rotundata</i>	M	34

Gêneros/Espécies	Tipo de Enantiostilia	Referências
<i>Chamaecrista rotundifolia</i>	M	4
<i>Chamaecrista serpens</i>	M	6
<i>Coprosma repens</i>	M	4
<i>Senna</i>	M	42; 65; 67
<i>Senna acuruensis</i>	M	7; 109
<i>Senna aversiflora</i>	M	66
<i>Senna cana</i>	M	3; 110; 118
<i>Senna corymbosa</i>	M	61
<i>Senna macranthera</i>	M	3; 4; 5; 6; 22
<i>Senna martiana</i>	M	3; 6
<i>Senna multijuga</i>	M	117; 126
<i>Senna pendula</i>	M	89
<i>Senna reniformis</i>	M	70
<i>Senna siamea</i>	M	109
<i>Senna spectabilis</i>	M	6; 7; 109
<i>Senna sylvestris</i>	M	24
<i>Senna tonduzii</i>	M	66
<i>Senna trachypus</i>	M	5
<i>Senna wislizeni</i>	M	66
<i>Stanhopea martiana</i>	M	4
<i>Tamarindus indica</i>	M	93; 94

MYRTALES

Lythraceae

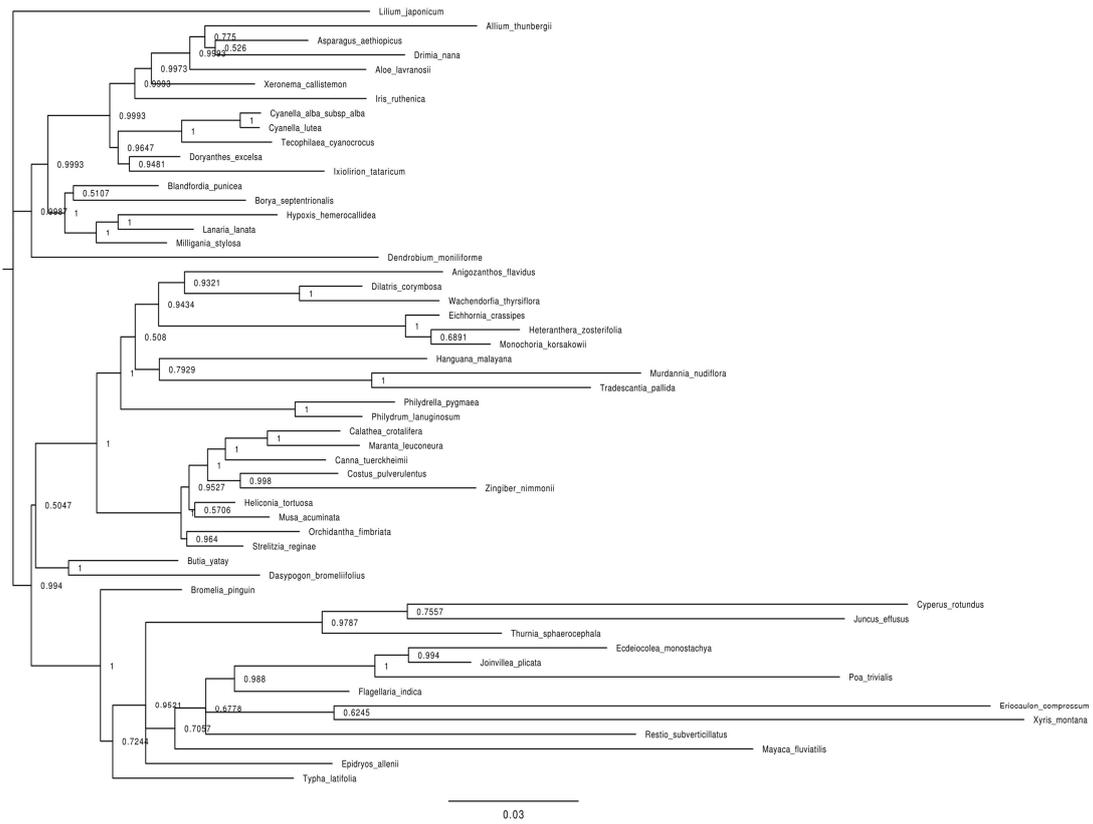
<i>Diplusodon crulsianus</i>	M	19
<i>Diplusodon oblongus</i>	M	19
<i>Diplusodon ramosissimus</i>	M	19
<i>Diplusodon rosmarinifolius</i>	M	19
<i>Diplusodon villosus</i>	M	19

Gêneros/Espécies	Tipo de Enantiostilia	Referências
Vochysiaceae		
<i>Callisthene</i>	M	42
<i>Callisthene fasciculata</i>	M	27; 79
<i>Callisthene major</i>	M	27; 79; 100
<i>Callisthene minor</i>	M	104
<i>Erisma</i>	M	42
<i>Erisma uncinatum</i>	M	97
<i>Qualea</i>	M	42
<i>Qualea cordata</i>	M	12; 79
<i>Qualea dichotoma</i>	M	79
<i>Qualea grandiflora</i>	M	15; 79; 80
<i>Qualea multiflora</i>	M	15; 27; 77; 79
<i>Qualea parviflora</i>	M	15; 27; 77; 79; 100
<i>Qualea schomburgkiana</i>	M	98
<i>Ruizterania esmeraldae</i>	M	98
<i>Ruizterania retusa</i>	M	98
<i>Ruizterania rigida</i>	M	98
<i>Salvertia convallariodora</i>	M	42; 78; 79

1- Almeida et al. 2013a; 2- Almeida et al. 2013b; 3- Almeida et al. 2015a; 4- Almeida et al. 2015b; 5- Almeida et al. 2016; 6- Almeida et al. 2018; 7- Amorim et al. 2017; 8- Anderson et al. 2015; 9- Anderson et al. 2016; 10- Arceo-Gómez et al. 2010; 11- Arceo-Gómez et al. 2012; 12- Aveiro 1997; 13- Azevedo 2014; 14- Bahadur et al. 1990; 15- Barbosa; 16- Barrett 1988; 17- Barrett et al. 2000; 18- Barrett 2002b; 19- Barros 1996; 20- Bezerra 2008; 21- Bohs et al. 2007; 22- Borges 2000; 23- Bowers 1975; 24- Carvalho & Oliveira 2003; 25- Costa 1984; 26- Costa et al. 2007; 27- Custódio 2011; 28- Daniel 1953; 29- De Luca et al. 2013; 30- Del Vitto & Petenatti 2015; 31- Dulberger & Orndulf 1980; 32- Dulberger 1981; 33- Dulpont & Olesen 2006; 34- Dutra et al. 2009; 35- Eckenwalder & Barrett 1986; 36- Endress 1999; 37- Endress 2012; 38- Evans et al. 2000; 39- Faden 2001; 40- Faegri 1986; 41- Fenster 1995; 42- Ferrer et al. 2011; 43- Gao et al. 2006; 44- Gardner & Robertson 2000; 45- Gottsberger et al. 1988; 46- Graham & Barrett 1995; 47- Harrisson et al. 1999; 48- Helme & Linder 1992; 49- Irwin & Barneby 1976; 50- Jesson & Barrett 2002a; 51- Jesson & Barrett 2002b; 52- Jesson & Barrett 2002c; 53- Jesson & Barrett 2003; 54- Jesson & Barrett 2005; 55- Jesson et al. 2003a; 56- Jesson et al. 2003b; 57- Kolehmainen & Korpelainen 2008; 58- Kolehmainen & Mutikainen 2006; 59- Kolehmainen 2008; 60- Kolehmainen 2010; 61- Laporta 2004; 62- Levin & Palmer 2007; 63- Levin et al. 2006; 64- Lu 2014; 65- Marazzi & Endress 2008; 66- Marazzi 2011; 67- Marazzi et al. 2006; 68- Martinon 2008; 69- Martins 2008; 70- Mesquita-Neto et al. 2017; 71- Mora-Carrera et al. 2018;

72- Nandikar & Gurav 2015; 73- Neal et al. 1998; 74- Ness et al. 2011; 75- Nogueira et al. 2018; 76- Ojeda et al. 2009; 77- Oliveira & Gibbs 2000; 78- Oliveira 1996; 79- Oliveira 1998; 80- Oliveira et al. 2004; 81- Oliveira-Rebouças 2011; 82- Omland 1999; 83- Ornduff 1979; 84- Ornduff & Dulberger 1978; 85- Ott et al. 2016; 86- Palmer 2016; 87- Pellegrini & Horn 2017; 88- Pickrell 2002; 89- Pinheiro-Costa et al. 2018; 90- Pinter et al. 2013; 91- Prohens et al. 2006; 92- Prohens et al. 2007; 93- Raju & Reddi 2000; 94- Reddi et al. 1997; 95- Ren 2015; 96- Ren et al. 2013; 97- Rodríguez & Sanoja 2004; 98- Rodríguez & Sanoja 2008; 99- Rudall et al. 1995; 100- Santos; 101- Scott & Middleton 2014; 102- Shivanna 2015; 103- Simpson 1998; 104- Soares et al. 2012; 105- Solís-Monteiro et al. 2015; 106- Solís-Montero & Vallejo-Marín 2017; 107- Sousa & Giuliatti 2015; 108- Sousa & Giuliatti 2016; 109- Sousa 2010; 110- Souza et al. 2012; 111- Stern et al. 2010; 112- Tang & Huang 2005; 113- Tang & Huang 2007; 114- Thomas & Paul 2015; 115- Thorp & Estes 1975; 116- Todd 1882; 117- Torres 2009; 118- Torres et al. 2007; 119- Triboun & Middleton 2012; 120- Vallejo-Marín 2009; 121- Vallejo-Marín et al. 2012; 122- Vallejo-Marín et al. 2014; 123- Wan et al. 2004; 124- Wang et al. 1995; 125- Wang et al. 1998; 126- Wolowski & Freitas 2010; 127- Zang et al. 2016; 128- Zhang & Lou 2015; 129- Zhang & Lou 2017.

Anexo 4 – Reconstrução filogenética das famílias das ordens Commelinids + Asparagales que apresentam espécies enantiostílicas com o suporte dos ramos. Árvore bayesiana gerada pelo programa MrBayes.



CAPÍTULO 2 – Reproductive biology and floral visitors in two enantiostylous *Qualea* species (Vochysiaceae) in the Brazilian Cerrado

* Artigo a ser submetido à Plant Biology (Stuttgart)

ABSTRACT

Enantiostyly is a floral polymorphism, in which two floral forms in the same species differ in deflection of the floral axis to right or left position. Enantiostyly can be defined as dimorphic, when each individual of the population has one floral morph or monomorphic, when both morphs occur in the same individual. Such polymorphism is known to favor cross-pollination by capturing pollen in specific parts of the pollinator's body. Enantiostylous species usually present poricidal anthers, pollen as a resource and heteranthy; however there are families such as Vochysiaceae that have different characteristics. We carried out studies on the reproductive biology of *Qualea parviflora* and *Q. multiflora* focussing on possible difference between morphs in the proportion of flowers, resource supply (pollen and nectar produced) and fruit set. We also evaluated the incompatibility system through manual pollination and determined the floral visitors and their activity, by means of focal observations. We found no differences between morphs in proportion of flowers, nectar production and concentration, pollen quantity and neither in fruit set between morphs. Still, pollen viability was greater in the left morph in *Q. multiflora*. Both species were self-incompatible and are generalists regarding floral visitors with *Q. parviflora* presenting greater richness of pollinators. Our results help understanding the success of these common species in the Brazilian Cerrado and, by analysing groups with non-typical enantiostylous characteristics, they expand our knowledge on this polymorphism.

Key words: breeding system; floral dimorphism; mirror-image flowers.

Introduction

Enantiostyly, also known as mirror-image flowers, is a floral polymorphism in which within the same species, there are two floral forms that differ in the deflection of stigma to the floral axis. In cases of reciprocal enantiostyly, in a morph the style is arranged to the right and the anthers to the left (right morph), and in the other morph the style is to the left and the anthers to the right (left morph; Barrett 2002a; Jesson & Barrett 2003). Enantiostyly can be dimorphic, when each individual in a population displays only one floral morph or monomorphic, when the two floral morphs occur in the same individual. In this case, both morphs can occur in the same branch of the plant or each branch may have a different morph (Barrett *et al.* 2000; Jesson & Barrett 2003). Enantiostyly occurs in about 3% of the angiosperms (Vallejo-Marín *et al.* 2010) and most species are monomorphic enantiostylous (Jesson *et al.* 2003a). Still, the functionality of monomorphic enantiostyly has only been analysed in very punctual groups (Jesson & Barrett 2002a,b; Jesson & Barrett 2003; Jesson *et al.* 2003a; Jesson & Barrett 2005; Almeida *et al.* 2013a,b; Almeida *et al.* 2015a,b).

Enantiostyly has been proposed to promote cross-pollination when bees visiting flowers collect pollen on the sides of their bodies and transference occur between flowers of opposite style deflection (Barrett *et al.* 2002). In straight-styled plants, all flowers on the plant can potentially donate and receive pollen from one another. In monomorphic enantiostylous, between-flower transference should be relatively reduced because not all flowers match and the amount of inter-flower crosses should depend on the ratio of left- and right-styled flowers on a plant. It could be expected, then, that in enantiostylous monomorphic species, the proportion of right (R here in after) and left (L here in after) morphs to be 1:1 in populations (Almeida *et al.* 2013a). Moreover, it can be also expected both morphs to be equally attractive to pollinators *ie.*, offering similar resources in all flowers (Leege & Wolfe 2002). Thus, both floral morphs are expected to receive the same proportion of visitation, helping to reduce geitonogamy by half, since half of the flowers in the individual are of one morph and half of another (Barrett *et al.* 2000; Barrett 2002).

Monomorphic enantiostyly is known to occur in several genera of the Vochysiaceae family: *Callisthene*, *Erismia*, *Qualea* (including *Ruizterania*) and *Salvertia* (Barbosa 1983; Aveiro 1997; Santos 1997; Oliveira 1998; Rodriguez & Sanoja 2008; Soares *et al.* 2012). This family presents a predominantly South American occurrence; it consists in 250 valid names distributed in 8 genera of which 6 have a

neotropical occurrence (Shimizu 2016). The family is interesting because several floral characteristics differ from most enantiostylous species (Graham & Barrett 1995). Enantiostylous species usually show poricidal anthers, pollen as a floral resource and heteranthery – difference in anther size or function (Graham & Barrett 1995). However, in Vochysiaceae the anthers have longitudinal dehiscence and the resource offered to pollinators is nectar. In addition, Vochysiaceae presents only one functional anther, being the others reduced or atrophied (Shimizu 2016).

For this reason, we aim at further investigating the reproductive system of *Q. parviflora* and *Q. multiflora*, describing the rewards offered to pollinators and determining their flower visitors. By doing this, we try to clarify whether both morphs attract similarly the pollinators and these visitors behave equally independently of the floral morph. In particular our objectives are to: 1. Estimate the proportion of flowers of each morph in the tree populations; 2. Characterise floral resources produced by both morphs to attract pollinators such as nectar (volume and sugar concentration) and pollen production; 3. Determine female reproductive success of each morph in terms of fruit production; 4. Analyse possible differences in the incompatibility system; 5. Evaluate floral visitors and their activity by means of floral observations. These results will help to further understand the enantiostylous syndrome and exploring whether groups with different floral traits behave similarly to previously described systems.

Material and methods

Study sites

Our study was carried out in the Brazilian cerrado (savanna), which is one of the 25 priority areas for global conservation – hotspots – in earth due to their high degree of threat, endemism and high biological diversity (Myers et al. 2000). The study was developed over the years of 2015, 2016 and 2017, from September to December for *Q. parviflora* and from October to January for *Q. multiflora*. We studied four populations of *Q. parviflora* and three of *Q. multiflora*. The populations were located in Cerrado areas of Goiás (GO) state province and the Federal District (DF). In some populations the two species were present: 1) Serra dos Pirineus State Park, Pirenópolis, Goiás – here in after Pirenópolis/GO – *Q. parviflora*: 15°82'16"S, 48°90'92"W; *Q. multiflora*: 15°80'42"S, 48°87'53"W; 2) Private Reserve of Natural Patrimony (RPPN) Linda Serra dos Topázios, Goiás – Cristalina/GO here in after – *Q. parviflora*: 16°73'84"S,

47°68'75"W; *Q. multiflora*: 16°74'51"S, 47°68'11"W; 3) Pé do Morro Farm, Federal University of Goiás – Catalão/GO here in after – *Q. parviflora*: 18°11'63"S, 48°00'16"W; 4) Ermida Dom Bosco – Dom Bosco Ecological Park, Federal District Dom Bosco/DF – here in after – *Q. parviflora*: 15°80'44"S, 47°80'76"W and 5) IBGE Ecological Reserve (Brazilian Institute of Geography and Statistics), Federal District–IBGE/DF – here in after – *Q. multiflora*: 15°95'26"S, 47°87'21"W. Due to a fire between the second and third fieldwork seasons, the population of *Q. parviflora* in Pirenópolis was replaced by Ermida Dom Bosco/DF population (Figure 1).

Study species

In Brazil, there are about 163 species of Vochysiaceae distributed in 6 genera (França 2018). Most genera are present at Cerrado region, where there are described about 51 species distributed in 4 genera (Sano et al. 2008). *Q. parviflora* and *Q. multiflora* are two species described as monomorphic enantiostylous (Jesson & Barrett 2003). The species are tree deciduous, and lose the leaves between April-May until the first rains in early September. *Q. parviflora* flowers between September and December and *Q. multiflora* between the end of September and the beginning of February. They both begin fruiting soon after flowering and the immature fruits remain in the tree until almost the beginning of the next flowering season, when they mature and are dispersed by the wind (Barbosa 1983; Santos 1997; Shimizu 2016). The flowers of both species take about a day to open completely and remain another 24 hours open and with the stigma receptive. Both species have zygomorphic flowers, with only one petal. In *Q. parviflora* the petal is violaceous and in *Q. multiflora* it is white after opening and cream on the second day. Both present a nectar guide and a spur where they stock nectar (Shimizu 2016). The pollen release occurs early in the morning, even before the flower is completely open (Barbosa 1983; Santos 1997).

Reproductive biology

We quantified the proportion of floral morphs in both species by exploring random flowers in 20 individuals from each population. We analysed the total number of flowers in 10 branches per individual. We counted the flowers in three populations

for each species: Pirenópolis/GO, Cristalina/GO and Catalão/GO for *Q. parviflora* and Pirenópolis/GO, Cristalina/GO and IBGE/DF for *Q. multiflora*.

Previous studies has shown that there is no difference in volume and sugar concentration in the nectar due to collection time (Barbosa 1983), so we collected nectar in 15 individuals in a population of each species (Catalão/GO for *Q. parviflora* and Pirenópolis/GO for *Q. multiflora*) about 12PM. In each individual we measured one flower of each morph: one right and one left. For this we bagged the flowers to avoid visits and used calibrated microcapillary tubes of 0.1 μ l (*Q. parviflora*) and 5 μ l (*Q. multiflora*) to measured the average volume of nectar produced. We estimated the sugar concentration (%) present in the nectar using a hand refractometer (Atago 0–90% Brix). Due to the low amount of nectar produced in *Q. parviflora* and its high viscosity we could not estimate the sugar concentration in this species.

We counted the number of pollen grains and calculated pollen viability in 20 individuals per species. In each individual one floral bud of each morph was randomly chosen. Pollen characterization was performed in one population of *Q. parviflora* (in October 2016) and one of *Q. multiflora* (in December 2015), both located in Pirenópolis/GO. To count the pollen in the laboratory we set up semi-permanent pollen slides of each anther bud, stained with 2% acetic carmine to record viability (Radford et al. 1974). We counted the total number of pollen grains under a 10X magnifying optical microscope and estimated viability by calculating the percentage of viable grains in 100 observed grains. Grains were considered viable when they cytoplasmatic contend was stained with acetic carmine and present a regular shape.

We evaluated the female function through fruit set in natural conditions. For this, we left flowers unbagged as control to verify natural pollination and added pollen from other individuals and of opposite morphs supplementation treatment to evaluating a possible pollen limitation. This was done in three populations. We also analysed the species reproductive system by means of hand-pollinations. For this, we bagged pre-anthesis flower buds and performed pollinations in one population of each species: Cristalina/GO for *Q. parviflora* and Pirenópolis/GO for *Q. multiflora*. We carried out each treatment in five flowers of each morph per individual in a total of 10–17 individuals depending on availability in the populations (Table S1). The treatments consisted in: 1. Self-pollination: we pollinated the flowers with their own pollen; 2. Geitonogamy: we used flowers within the same individual of the same morph and of the opposite morph. 3. Xenogamy: similarly to the Geitonogamy treatment, we pollinated

flowers with pollen from the same morph or different morph but coming from another donor. We evaluated fruit production from each treatment/population after two to three months. For logistic reasons we could not wait for the fruits to develop seeds completely. However, we tried to get an estimation of the number of seeds produced per fruit under natural conditions. Thus, we returned to Pirenópolis/GO later in the season (September 2017) and we randomly collected 10 fruits in 10 trees in both species to estimate the number of seeds produced.

Finally, we studied the pollination biology of each species by observing and collecting floral visitors in three populations of each species: Dom Bosco/DF, Cristalina/GO and Catalão/GO for *Q. parviflora* and Pirenópolis/GO, Cristalina/GO and IBGE/DF for *Q. multiflora*. During the flowerig station, we observed floral visitors for 40 hours in each population of both species, evaluating the visitation rate of the floral visitors throughout the day. Visitation rate was calculated as the number of visits in relation to the quantity of flowers available. We made an additional 10 hours of active collection of floral visitors in each population of *Q. parviflora* and 6 hours of collection of floral visitors in *Q. multiflora*. The floral visitors were identified by specialists and all were deposited in the Entomological Collection of the University of Brasília (UnB) – Brasília/DF.

Statistical analyses

We compared the amount of right and left open flowers by means of χ^2 tests for each on the three populations of each species.

To compare nectar volume and concentration and the quantity and viability of pollen grains between morphs, we used general linear mixed models including the identity of the individual as a random factor. For pollen grains and nectar volume analyses we used general linear mixed models and for pollen viability and nectar concentration we used generalised mixed models with a binomial distribution (suitable for proportional data).

To test differences in fruit set between treatments we also used generalised mixed models with a binomial distribution, with the fruit set as a response variable, and floral morph and treatment as predictor variables. To test whether morphs responded differently to treatments, we included the interaction between morph and treatment in the model (morph*treatment). We tested the interaction using the likelihood ratio test

and in cases where the interaction was not significant, we adjusted the models without the interaction term. For all models, we tested the significance of random factors (populations) using the likelihood ratio test. When the variation of the random factors was not significant, we adjusted a simple GLM without random factors. We used least square means from the final models along with asymptotic confidence intervals to visualize the results. We used a-posteriori Tukey contrasts to compare pairs of means.

To compare floral visitors we calculated the estimated visitor richness for each species using the Chao1 estimator (Chao *et al.* 2009). Since the sample effort was different between the two species of *Qualea*, we constructed rarefaction curves to allow the comparison of their richness. We also compared the similarity in the composition of visitor species between the two species of *Qualea* by means of a PERMANOVA with distance matrix of Bray Curtis, considered the best method in the case of heteroscedasticity between groups (Anderson & Walsh 2013). We performed the analyses in the R software (R Core Team 2018), using functions of the vegan package (Oksanen *et al.* 2018).

Results

The number of flowers observed per morph in all populations varied from 229–606 in *Q. parviflora* e 194–344 in *Q. multiflora*, depending on the amount of flowers in the branches analyzed in each population. There were no significant differences between the proportions of floral morphs in open flowers in all populations of both species (Table 1).

In *Q. parviflora* nectar volume ranged from 0.19 to 1.19 μl in the right morph, with a mean of $0.71 \pm 0.29 \mu\text{m}$ and between 0.41 to 1.56 μl in the left morph with a mean of $0.84 \pm 0.36 \mu\text{l}$. There was not statistical differences between them ($t = 1.14$, $P = 0.26$; Figure 2A). In *Q. multiflora* nectar volume ranged from 2.93 to 20.13 μl in the right morph, with a mean of $11.32 \pm 4.82\mu\text{l}$; and from 1.13 to 23.93 μl in the left morph with a mean of $10.31 \pm 5.69 \mu\text{l}$. There were no differences between morphs ($t = -0.829$, $P = 0.42$; Figure 2B). The sugar concentration in *Q. multiflora* varied from 28 to 48% in the right morph, with an average of 37 ± 4.83 and between 31 and 49% in left morph with an average of 38.69 ± 5.30 . There was no differences between morphs ($Z = 0.986$, $P = 0.324$; Figure 2C).

There were no differences between morphs in the amount of pollen grains produced for any species (Table 2; Figure 3A, 3B). In *Q. parviflora* we found a range of

5.794–25.192 grains per flower in the right morph and of 6.992–28.170 grains per flower in the left morph. In *Q. multiflora* we found 1.796–23.840 grains per flower in the right morph and 702–22.218 grains per flower in the left morph.

For pollen viability in *Q. parviflora* there was no differences between morphs (Table 2; Figure 3C). However, *Q. multiflora* presented higher viability (4% on average) for flowers of the left morph (Table 2; Figure 3D). In *Q. parviflora* we found a viability ranging between 84–100% in the right morph and 60–100% in the left morph. In *Q. multiflora* we found a viability of 63–95% in the right morph and of 10–100% in the left morph.

In both species the selfing and geitonogamy treatments set no fruit set for both morphs and for this reason we did not include them in the statistical analyses. The mixed model including the interaction between morph and treatment did not statistically differ from the model considering the main effects (Anova comparison between both models for *Q. parviflora*: $X^2 = 4.335$, $P = 0.227$ and for *Q. multiflora*: $X^2 = 1.393$, $P = 0.707$), thus, the interaction was removed. In respect to the random effect, the models with and without the factor “population” differed for *Q. multiflora* ($X^2 = 14.259$, $P < 0.001$) but not for *Q. parviflora* ($X^2 = 0.995$, $P = 0.318$). The factor morph was neither significantly different in any species (*Q. parviflora*: $Z = 0.776$, $P = 0.438$; *Q. multiflora*: $Z = 0.104$, $P = 0.917$); both morphs responded similarly to the treatments.

There was a significant effect of the treatments in comparison with the control for both species (*Q. parviflora*: $F = 4.5215$, $P = 0.004$; *Q. multiflora*: $X^2 = 14.398$, $P = 0.0023$). Pollen supplementation had no effect comparing to control for both species and both species showed an increase in fruit set in the Xenogamy treatment independently of the origin (same or opposite morph) (Table 3, Figure 4).

The fruits of *Q. parviflora* and *Q. multiflora* consist in a capsule with three locules. The natural seed formation by fruits varied from 1 to 6 seeds, distributed in a maximum of two seeds in each of the three loci of the fruits of each species. *Q. parviflora* had an average of 4.41 ± 1.17 seeds per fruit. Most fruits (33%) had 4 seeds per fruit. *Q. multiflora* had on average 3.15 ± 1.42 seeds per fruit. The majority of fruits (33%) had 3 seeds per fruit.

Q. parviflora populations had more floral visitors compared to the populations of *Q. multiflora* (Supplementary table S2). We observed 32 floral visitor species in *Q. parviflora* (Chao1 estimated richness = 43.14 ± 8.23) and 19 floral visitor species in *Q. multiflora* (Chao1 estimated richness = 25.00 ± 5.38). Even considering the differences

in sample effort (10h for *Q. parviflora* vs 6h for *Q. multiflora*), *Q. parviflora* showed a greater number of visitors (Supplementary table S2). Still, the species composition of both species was similar ($F = 2.874$; $P = 0.100$). We artificially grouped some of the visitors into two classes considering common characteristics due to the difficulty of identifying them in the field. Group 1 referred to large bees, predominantly black and presenting similar behaviour during the visitation. They performed slow visits and usually great number of visits within the same plant: *Bombus brevivillus*, *B. morio*, *B. pauloensis*, *Centris scopipes*, *Epicharis dejeani*, *E. bicolor*, *E. flava* and *E. analis*. Group 2 referred to *Exomalopsis fulvofasciata* and *Epicharis xanthogastra* also very similar bees being difficult to identify in the field. They are both small bees with black abdomen and yellow stripes. The visitation rate was lower in the *Q. parviflora* populations when compared to the populations of *Q. multiflora* (Figures 5-6). While in *Q. parviflora* there were more bees species responsible for the visitation rates, in *Q. multiflora* the majority of visits were more restricted to bees of “Group 1”.

In addition to the bees, both species were also visited by other insects such as butterflies (*Urbanus*, another Pieridae, *Aellopos cf. titan*) and various species of hummingbirds. However, due to the behavior of these animals when visiting the flowers, we did not consider them as pollinators since no part of their bodies touches the anther or stigma of the flowers. The most common species recorded in *Q. parviflora* were: Group 1, Group 2 and *Centris aenea* (Figure 5). In *Q. multiflora* we observed predominantly Group 1; Group 2; *Centris aenea*; *Xylocopa* spp, and two wasps of the genus *Campsomeris* (Figure 6). See Supplementary table S2 for a complete list. The observations of visits in the populations did not reveal great differences between the schedules of greater concentration of visits. In *Q. parviflora* we noticed only a slight increase in the number of visits in the three populations as of 10:00 AM. In *Q. multiflora*, we do not notice large differences between visiting times during the day.

Discussion

Enantiostyly has been described in more than 12 botanical families (Barrett et al. 2000), about 3% of Angiosperms (Vallejo-Marín et al. 2010). Still, detailed studies on particular ecological characteristics and the functional significance of enantiostyly have been focused in some groups that usually present common characteristics: poricidal anthers, pollen as a floral resource and heteranthery (Graham & Barrett 1995 Almeida et al. 2013a,b; Almeida et al. 2015a,b). Further exploration of enantiostyly in groups with

different traits help knowing the breeding system of the studied taxa and, additionally, boosts understanding of this floral polymorphism. Besides, there are no many studies looking at each floral morph individually to test whether they behave similarly in terms of male and female functions. Monomorphic enantiostyly is known to improve cross pollination among plants when comparing to non enantiostyly (Jesson & Barrett 2003). This is strongly related to pollinators activity and is straightly related to the plant's physiological mechanisms. Trees bearing an incompatibility system and in which there are many flowers may experience strong fruit discount due to geitonogamous pollinations. In this cases, having two morphs independent in their pollination may be advantageous for reducing self-pollination and geitonogamous pollination (Jesson & Barrett 2003).

In this study, we aim at analysing whether both morphs in species of function similarly from a physiological and ecological point of view. First of all, we observed whether attractiveness of morphs to floral visitors was similar in both species. The occurrence of the same proportion of flowers among morphs and the equivalence in the reward offered by the morphs in both species pointed out no difference in attractiveness of the flowers due to morph in neither *Q. parviflora* nor *Q. multiflora*. These findings confirmed previous studies in other groups (Barrett et al. 2000; eg., Almeida et al. 2015a). The nectar equivalence between morphs, both in volume and in sugar concentration, corroborated this equity of attractive potential which suggested a similar rate of visitation of pollinators (Leege & Wolfe 2002).

Comparison of investment in male function between morphs, evaluated by comparing the quantity and viability of the pollen grains, revealed no differences in the amount of pollen grains between morphs for both species, but the viability of the grains was slightly higher in the left morph of *Q. multiflora*. However, we could not find any difference between morphs in the female reproductive success (measured in open pollinations) so this could be an early stage in the specialization process.

The studied *Qualea* species are self-incompatible since self-pollination and geitonogamy treatments did not produce any fruit, independently of the morph. Both species appear to be late self-incompatible according to previous studies in which it was showed initial growth of pollen tube and subsequent fruit abortion in formation (Barbosa 1983; Santos 1997). Although both species showed a low fruiting rate, *Q. multiflora* produced more fruits than *Q. parviflora*. Of the total of 430 flowers marked in *Q. parviflora*, 23 (5.35%) ended up in fruit, whereas in a total of 330 flowers marked

in *Q. multiflora*, 30 (9.09%) became fruit. In natural conditions, we observed low fruit set, as in previous studies in other populations (Barbosa 1983; Santos 1997). This is relatively common in self-incompatible species, since part of the pollen that arrives at the stigmas is from the plant itself, thus reducing the natural production of fruits (Custódio et al. 2014). Fruit set was low even after hand-pollinations, which may be due to a high seed predation rate. In *Q. parviflora* and *Q. multiflora* it has been proposed selective abortion can eliminate fruits compromised by predation and resources saving on a fruit that will not be viable (Custódio et al. 2014). Among the enantiostylous genera of the family Vochysiaceae present in the Cerrado, it is common the presence of self-incompatibility observed in *Q. grandiflora* (Barbosa 1983; Oliveira 1998; Oliveira et al. 2004); *Q. schomburgkiana* (Rodriguez & Sanoja 2008); *Q. cordata* (Aveiro 1997; Oliveira 1998); *Callisthene fasciculata* (Santos 1997; Custódio et al. 2014) and *C. major* (Custódio et al. 2014).

Morph R and L appeared to receive equivalent exogenous pollen under natural pollination conditions, such as occurs in other enantiostylous species (Bahadur et al. 1990; Barrett 2002a). We can also affirm that both species do not suffer from pollen limitation due to the lack of pollinators (Ashman et al. 2004), since the supplementation treatment produced an equivalent quantity of fruits in *Q. parviflora* and *Q. multiflora* when compared to control, so, the addition of pollen manually did not increase the fruiting. The greater fruit set of xenogamy in relation to supplementation, however, may indicate a stigma clogging in flowers due to the excess of self-pollen that arrives at the stigma from other flowers of the same plant (Piper 1986; Webb & Lloyd 1986; Palmer et al. 1989; Holland & Chamberlain 2007; Herbertsson et al. 2017) and in this way disrupt the growth of pollen tube of natural xenogamic pollen. This is not surprising, since in the observation of floral visitors we noticed a large number of consecutive visits in flowers of the same individual, and therefore pollinators deposited much self-pollen in the flowers of each tree although there is a decrease of the geitonogamy because the species are enantiostylous (Jesson & Barrett 2003). The effect of the self-pollen clogging the stigma can also explain the enormous increase of fruit production in the xenogamy treatment, when compared to the control, especially in *Q. parviflora*. In this context, the incompatibility system present in these species becomes even more important because it avoids self-pollination.

Some enantiostylous species such as, do not present an incompatibility system like *Maranta leuconeura* (Azevedo 2014), *Solanum rostratum* and *S. citrullifolium*

(Bohs et al. 2007; Sólis-Monteiro & Vallejo-Marín 2017), *Monokoria korsakowii* (Wang et al. 1998) and species from Cassiinae subtribe, (Almeida et al. 2013a,b, 2015a,b) and therefore depend only on enantiostyly to avoid self-pollination and subsequent self-fertilization. However, these species have a reduced number of floral visitors, sometimes more specialized in vibration pollination and visit these flowers in search of pollen. The *Qualea* species studied here have a large variety of visitors, who visit the flowers seeking nectar, which causes the stigma of the flowers to be more exposed to the arrival of both auto pollen and xenogamic pollen, and the incompatibility system avoids self-pollination thus allowing the flower to be pollinated by legitimate pollen. Although the incompatibility system prevents self-fertilization, there is still a decrease in fruit set due to the clogging of the stigma. When the flowers were bagged and later received legitimate pollen in xenogamy treatment (independently of the morph) the average fruit set increased compared to control. That is, without self-pollen, the effectiveness of legitimate cross-pollination was higher in both species. Therefore, we verified that both species have enough pollinators and that they make many visits, but because visits are consecutive in the same plant they deposit a lot of self-pollen on stigmas. In this case, having two morphs unlikely to cross should constitute a selective advantage (Jesson & Barrett 2003).

Both species presented a large number of floral visitors that, in most cases effective pollinators because they touch the sexual organs in the flowers. *Q. parviflora* had higher pollinator richness but we observed a lower visit rate in this species when compared to *Q. multiflora*. Even though we did not differentiate morphs during the census, we observe all insects to visit flowers randomly in the plant, so there was no preference when visiting. This was expected since rewards were the same between morphs. While in *Q. parviflora* we observed a great richness of bee species visiting the flowers, in *Q. multiflora* most of the visits were made by "Group 1" bees, bees that present a similar pattern of visitation. Bees defined as "Group 1" were large, slow bees that visit many flowers, sometimes all the flowers of the same plant, before moving to another plant. It is difficult to distinguish them within this group in the field. We did not observe any particular hour where pollinators visited more the plants. On the contrary, the peaks of visitation were distributed at different times in the three populations of each species. Although we recorded visits during all day in all populations, pollinations actually occurred during the morning, since we hardly found pollen in the anthers of the flowers after 12:00 pm. *Q. multiflora* was also less generalistic than *Q. parviflora*. In

addition, bees that vibrate cling to the flowers and can damage them, and the enantiostylous morphology, with stigma and anther displaced from the center of the flower, helps to promote the protection of gynoecium, since pistil displacement prevents the pollinator from damaging it at the time of pollen removal (Graham & Barrett 1995). This reinforces the idea of Graham & Barrett (1995) that floral morphology is one of the main factors in the maintenance of monomorphic enantiostyly.

Therefore, we noticed a great investment of both *Q. parviflora* and *Q. multiflora* producing flowers and as a consequence, fruits. This should be related to their common occurrence in Cerrado formations. Both are very successful in achieving environments in the Cerrado, so much so that *Q. parviflora* is the second most prevalent arboreal species in Cerrado formations, occurring in about 78% of Cerrado and *Q. multiflora* areas occurring in 51% of Cerrado (Ratter et al. 2003). In addition, *Q. parviflora* is the 2nd most abundant tree species of Cerrado and *Q. multiflora* is the 36th (Silva Júnior 2012).

In general, both species studied have reproductive equivalence among floral morphs. The proportion of flowers produced and the availability of resources offered to pollinators do not differ between morphs, and male reproductive investment and fruit production do not differ between morphs. Although the natural production of fruits in the species of *Q. parviflora* and *Q. multiflora* was independent of the floral morph, there is a tendency that the left morph of *Q. multiflora* is a little more efficient in the production of viable pollen. However, there is no observation of the pollinator's preference for any specific morph. Despite the fact that the species of the family Vochysiaceae differ morphologically from the other enantiostylous species, the species studied here seem to behave similarly to the other species. Although there is no comparison of fruit set between enantiostylous and non-enantiostylous species, the fact that the species studied here have a high occurrence in the Cerrado point out that enantiostyly should confer a reproductive advantage in this environment.

LITERATURE CITED

- Almeida NM, Castro CC, Leite AVL, Novo RR, Machado IC. 2013a. Enantiostyly in *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae Caesalpinioideae): floral morphology, pollen transfer dynamics and breeding system. *Plant Biology*. 15(2): 369-375.
- Almeida NM, Castro CC, Leite AVL, Novo RR, Machado IC. 2013b. Floral polymorphism in *Chamaecrista flexuosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): a possible case of atypical enantiostyly? *Annals of Botany* 112: 1117–1123.
- Almeida NM, Bezerra TT, Oliveira CRS, Novo RR, Siqueira-Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2015a. Breeding systems of enantiostylous Cassiinae species (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Flora* 215: 9-15.
- Almeida NM, Cotarelli VM, Souza DP, Novo RR, Siqueira-Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2015b. Enantiostylous types of Cassiinae species (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Plant Biology* 17: 740–745.
- Anderson MJ, Walsh DCI. 2013. PERMANOVA, ANOSIM, and the Mantel test in the face of heterogeneous dispersions: What null hypothesis are you testing? *Ecological Monographs*. 83(4): 557:574.
- Ashman T-L, Knight TM, Steets JA, Amarasekare P, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Mazer SJ, Mitchell RJ, Morgan MT, Wilson WG. 2004. Pollen Limitation of Plant Reproduction: Ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85(9): 2408–2421.
- Aveiro SMG. 1997. Biologia da reprodução e crescimento inicial de *Qualea cordata* Spreng (Vochysiaceae), uma espécie arbórea do Cerrado. 156 f. Tese (Doutorado)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Azevedo 2014. Sistemas Reprodutivos em espécies não-arbóreas de fragmento de floresta atlântica do sudeste brasileiro: diversidade, frequência e condições derivadas.
- Bahadur B, Chaturvedi A, Swamy NR. 1990. SEM studies of pollen in relation to enantiostyly and heterantery in *Cassia* (Caesalpinaceae). *Journal of Palynology* 91: 7-22.
- Barbosa AAA. 1983. Aspectos da Ecologia Reprodutiva de três espécies de *Qualea* (Vochysiaceae) num Cerrado de Brasília – DF. Dissertação Universidade de Brasília, Departamento de Botânica, Brasília/DF.

- Barrett SCH, Jesson LK, Baker AM. 2000. The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany*. 85(Supplement A): 253-265.
- Barrett SCH. 2002a. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics*. 3: 274–284.
- Barrett SCH. 2002b. Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88: 154–159.
- Bohs L, Weese T, Myers N, Lefgren V, Thomas N, van Wagenen A, Stern S. 2007. Zygomorphy and Heteranthery in *Solanum* in a Phylogenetic Context. *Acta Horticulturae* 745: 201-224.
- Chao A, Colwell RK, Lin C, Gotelli NJ. 2009. Sufficient sampling for asymptotic minimum species richness estimators. *Ecology* 90: 1125–1133.
- Custódio LN, Carmo-Oliveira R, Mendes-Rodrigues C, Oliveira PE. 2014. Pre-dispersal seed predation and abortion in species of *Callisthene* and *Qualea* (Vochysiaceae) in a Neotropical savanna. *Acta Botanica Brasílica* 28(3): 309-320.
- França F. 2018. Vochysiaceae. *In: Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB250>. (Accessed 30 October 2018)
- Graham SW, Barrett SCH. 1995. Phylogenetic Systematics of Pontederiales. *In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ. 1995. Monocotyledons: Systematic and Evolution* 415-441. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Herbertsson L, Gåvertsson I, Klatt B, Smith HG. 2017. Assessing the Risk of Stigma Clogging in Strawberry Flowers due to Pollinator Sharing with Oilseed Rape. *Journal of Pollination Ecology* 21(2): 71-77.
- Holland JN, Chamberlain AS. 2007. Ecological and Evolutionary Mechanisms for Low Seed: Ovule Ratios: Need for a Pluralistic Approach? *Ecology* 88(3): 706–715.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002a. Solving the puzzle of mirror-image flowers. *Nature* 417:707.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002b. The genetics of mirror-image flowers. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 269: 1835–1839.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Science* 164(5 Suppl.): 237–249.
- Jesson LK, Barrett SCH, Day T. 2003. A Theoretical Investigation of the Evolution and Maintenance of Mirror-Image Flowers. *The American Naturalist* 161(6): 916-930.

- Jesson LK, Barrett SCH. 2005. Experimental tests of the function of mirror-image flowers. *Biological Journal of the Linnean Society*. 85: 167–179.
- Leege LM, Wolfe LM. 2002. Do floral herbivores respond to variation in flower characteristics in *Gelsemium sempervirens* (Loganiaceae), a distylous vine? *American Journal of Botany* 89: 1270-1274.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlenn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner H. 2018. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-2. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Oliveira PE, Gibbs PE. 2000. Reproductive biology of wood plants in a cerrado community of Central Brazil. *Flora* 195: 311-329.
- Oliveira PE. 1998. Reproductive Biology, Evolution and taxonomy of the Vochysiaceae in the Central Brasil. *In*: Owens SJ, Rudall PJ. *Reproductive Biology*. 381-393.
- Oliveira PE, Gibbs PE, Barbosa AA. 2004. Moth pollination of woody species in the Cerrados of Central Brazil: a case of so much owed to so few? *Plant Systematic and Evolution* 245: 41–54.
- Palmer M, Travis J, Antonovics J. 1989. Temporal mechanisms influencing gender expression and pollen flow within a self-incompatible perennial, *Amianthium muscaetoxicum* (Liliaceae). *Oecologia* 78: 231-236.
- Piper J. 1986. The evolution of distyly in *Primula vulgaris*. *Biological Journal of the Linnean Society* 29: 123-137.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Radford AE, Dickison WC, Massey JR, Bell CR. 1974. *Vascular plant systematics*. New York: Harper and Row. 891 p.
- Ratter JA, Bridgewater S, Ribeiro JF. 2003. Analysis of the Floristic Composition of the Brazilian Cerrado Vegetation III: Comparison of the Woody Vegetation of 376 Areas. *Edinburgh Journal of Botany* 60 (1): 57–109.
- Rodríguez L, Sanoja E. 2008. Fenología, biología floral de polinización de especies de la familia Vochysiaceae en la Guayana Venezolana. *Acta Botanica Venezuelana* 31: 331-366.

- Sano SM, Almeida SP, Ribeiro JF. 2008. Cerrado: Ecologia e flora (checklist). v.2. Embrapa Cerrados. Brasília/DF. 1279p.
- Santos ML. 1997. Biologia floral de duas espécies de Vochysiaceae em um Cerrado sobre afloramento basáltico em Araguari, MG. Dissertação Universidade de Brasília, Departamento de Botânica, Brasília/DF. 93f.
- Shimizu GH. 2016. Phylogenetic, taxonomic and nomenclatural studies in Vochysiaceae and synopsis of *Vochysia* in Brazil. Tese Universidade de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas/SP. 126f.
- Silva Júnior, M.C. 2012. 100 Árvores do Cerrado - Sentido restrito: Guia de campo. Brasília, Ed. Rede de sementes do Cerrado. 304p.
- Soares SMNA, Kaehler TG, Araujo RB, Falconer D, Silva DP, Monteiro VM. 2012. Biologia Floral, Enantiostyly, sistema reprodutivo e potenciais polinizadores de *Callisthene minor* Mart (Vochysiaceae), Chapada dos Veadeiros – Brazil. Biologia e Ecologia da polinização. Curso de campo 3: 89-97.
- Solís-Montero L, Vallejo-Marín M. 2017. 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* 7(7): 2706–2715.
- Vallejo-Marín M, Da Silva EM, Sargent RD, Barrett SCH. 2010. Trait correlates and functional significance of heteranthery in flowering plants. *New Phytologist* 188: 418–425.
- Wang G, Yamasue Y, Itoha K, Kusanagi T. 1998. Outcrossing rates as affected by pollinators and the heterozygote advantage of *Monochoria korsakowii*. *Aquatic Botany* 62: 135-143.
- Webb CJ, Lloyd DC. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in Angiosperms II. Hecogamy. *New Zealand Journal of Botany* (24)1: 163-178.

Table 1 – Proportion between right (R) and left (L) opened flowers in *Qualea parviflora* and *Q. multiflora* in each population and results from comparisons with expected proportions. Trace (-) refers to populations that were not studied.

Population	<i>Qualea parviflora</i>				<i>Qualea multiflora</i>			
	Proportion R:L	X^2	df	<i>P</i>	Proportion R:L	X^2	df	<i>P</i>
Pirenópolis	1:1.9	0.67	1	0.41	1:1.11	0.94	1	0.33
Cristalina	1:1.01	0.015	1	0.90	1:1.26	2.96	1	0.09
IBGE	-	-	-	-	1:1.09	0.33	1	0.56
Catalão	1:1.24	2.73	1	0.1	-	-	-	-

Table 2 - Comparison of quantity and viability of pollen grains between morphs of *Qualea parviflora* and *Q. multiflora*. R: right morph; L: left morph.

Specie	Morph	Quantity of grains		Viability (%)	
		Mean±sd		Mean±sd	
<i>Q. parviflora</i>	R	14.413±5.504	$t = 1.010$	95.18±4.27	$Z = 0.117$
	L	15.457±5.259	$P = 0.330$	95.39±9.08	$P > 0.900$
<i>Q. multiflora</i>	R	6.055±5.356	$t = 0.114$	80.88±21.06	$Z = 3.040$
	L	6.148±5.468	$P > 0.900$	81.94±11.26	$P = \mathbf{0.002}$

Table 3 – Comparisons of fruit set after hand-pollination treatments compared to the controls in *Qualea parviflora* and *Q. multiflora*. Suppl: Supplementation; XenoOpo: xenogamy with pollen by opposite morph flower; Xeno R/L: xenogamy with pollen by same morph flower. Estimate mean difference between treatment and control.

	<i>Qualea parviflora</i>			<i>Qualea multiflora</i>		
	Estimate	Z-value	P	Estimate	Z-value	P
Intercept	-2.94	0.21	<0.001	-2.38	0.41	<0.001
Supl	0.045	0.15	0.88	0.39	1.52	0.128
XenoOpo	1.19	3.90	<0.001	1.58	3.75	<0.001
XenoSame	0.75	2.24	0.025	1.26	2.88	0.004

Table S1 – Fruit set (as percentage) obtained after hand-pollination treatments for both morphs (R, right and L, left) in *Qualea parviflora* and *Q. multiflora*. Cont: flowers without bagging left for natural pollination; Suppl: unbagged, and supplemented with extra xenogamous pollen; Xeno R/R: xenogamy right flower pollinated by right flower pollen of another plant; Xeno R/L: xenogamy right flower pollinated by left flower pollen of another plant; Xeno L/L: xenogamy left flower pollinated by left flower pollen of another plant; Xeno L/R: xenogamy left flower pollinated by right flower pollen of another plant. (-) refers to treatments not available.

Population	<i>Qualea parviflora</i>			<i>Qualea multiflora</i>		
	Cristalina	Dom Bosco	Catalão	Pirenópolis	Cristalina	IBGE
N	17	15	14	13	10	10
Cont R	6.67	8.75	2.67	5.71	12	12
Cont L	5	7.5	1.33	5.71	12	8
Supl R	5	4	2.67	2.86	16	18
Supl L	6.67	8.75	5.33	0	24	22
Xeno R/R	16.67	-	-	10	-	-
Xeno R/L	15	-	-	17.14	-	-
Xeno L/L	11.67	-	-	12.86	-	-
Xeno L/R	26.67	-	-	12.86	-	-

Table S2 – List of bees and the number of individuals collected in the populations of *Qualea parviflora* and *Qualea multiflora*.

Subfamily/Tribe/Species	<i>Qualea parviflora</i>			<i>Qualea multiflora</i>		
	Catalão	Cristalina	Dom Bosco	Pirenópolis	Cristalina	IBGE
APINAE						
Centridini						
<i>Centris (Centris) aenea</i> Lepeletier	20	4	21	2		
<i>Centris (Centris) segregata</i> Crawford	1	1				
<i>Centris (Centris) sp.</i> Fabricius		6				
<i>Centris (Hemisiella) tarsata</i> Smith	1	2				
<i>Centris (Melacentris) analis</i> Fabricius	1					
<i>Centris (Ptilotopus) scopipes</i> Friese		1				1
<i>Centris (Trachina) longimana</i> Fabricius		2				
<i>Centris (Xanthemisia) bicolor</i> Lepeletier	1					
<i>Epicharis (Anepicharis) dejeani</i> Friese	1					1
<i>Epicharis (Epicharis) bicolor</i> Smith	3			1		
<i>Epicharis (Epicharana) flava</i> Friese			5	2		
<i>Epicharis (Epicharitides) cockerelli</i> Friese	8					1
<i>Epicharis (Epicharitides) iheringii</i> Friese	3	1				
<i>Epicharis (Epicharoides) xanthogastra</i> Moure & Seabra	2	5				
<i>Epicharis (Triepicharis) analis</i> Lepeletier	2			9	1	4
Xylocopini						
<i>Xylocopa (Dasyxylocopa) sp.</i> Hurd & Moure			1			
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) grisescens</i> Lepeletier		1	1	1		
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) hirsutissima</i> Maidl		1		1	1	
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) suspecta</i> Moure & Camargo				2		

Subfamily/Tribe/Species	<i>Qualea parviflora</i>			<i>Qualea multiflora</i>		
	Catalão	Cristalina	Dom Bosco	Pirenópolis	Cristalina	IBGE
<i>Xylocopa (Schonnherria) subcyanea</i> Pérez		3				
Ericrocidini						
<i>Mesoplia</i> sp.1 Lepeletier		4				
<i>Mesoplia</i> sp.2 Lepeletier		1				
<i>Ctenioschelus goryi</i> Romand						1
<i>Eurytis funereus</i> Smith				1		
Bombini						
<i>Bombus (Fervidobombus) brevivillus</i> Franklin		2		1	6	
<i>Bombus (Fervidobombus) morio</i> Swederus				2	1	1
<i>Bombus (Fervidobombus) pauloensis</i> Friese		2	1		3	1
Meliponini						
<i>Geotrigona mombuca</i> Smith		1				
<i>Trigona spinipes</i> Fabricius		1				
Apini						
<i>Apis mellifera</i> Linnaeus	2	1		4	3	3
Euglossini						
<i>Euglossa</i> sp. Latreille		1				

Subfamily/Tribe/Species	<i>Qualea parviflora</i>			<i>Qualea multiflora</i>		
	Catalão	Cristalina	Dom Bosco	Pirenópolis	Cristalina	IBGE
Exomalopsini						
<i>Exomalopsis fulvofasciata</i> Smith						2
ANDRENINAE						
Oxaeini						
<i>Oxaea flavescens</i> Klug		2				
COLLETINAE						
Diphaglossini						
<i>Ptiloglossa</i> sp. Smith					1	
HALICTINAE						
Augochlorini						
<i>Augochloropsis</i> sp. Cockerell		1				
MEGACHILINAE						
Megachilini						
<i>Megachile (Pseudocentron)</i> cf. <i>rubricata</i> Smith		1				
<i>Megachile (Pseudocentron)</i> sp. Mitchell		5	1			1
<i>Epanthidium aureocinctum</i> Urban		1				
TOTAL	45	50	30	26	16	16

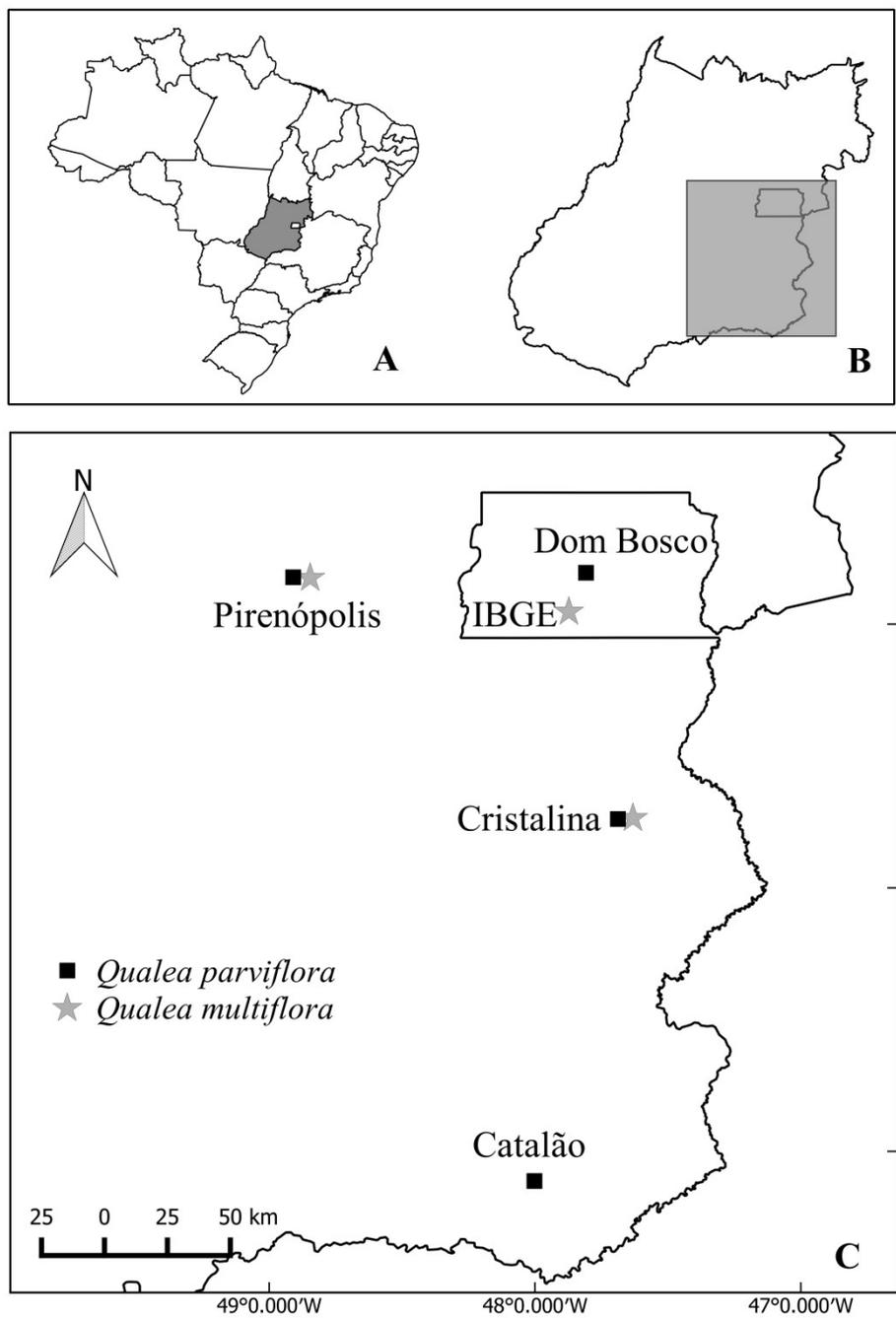


Figure 1 – Location map of *Qualea parviflora* (square) and *Qualea multiflora* (star) studied populations in Brazil. A) Brazilian map showing Goiás State (GO) and the Federal District (DF) colored in gray. B) Detail of Goiás State and Federal District and C) situation of populations in the territory of Goiás (GO) and Federal District (DF).

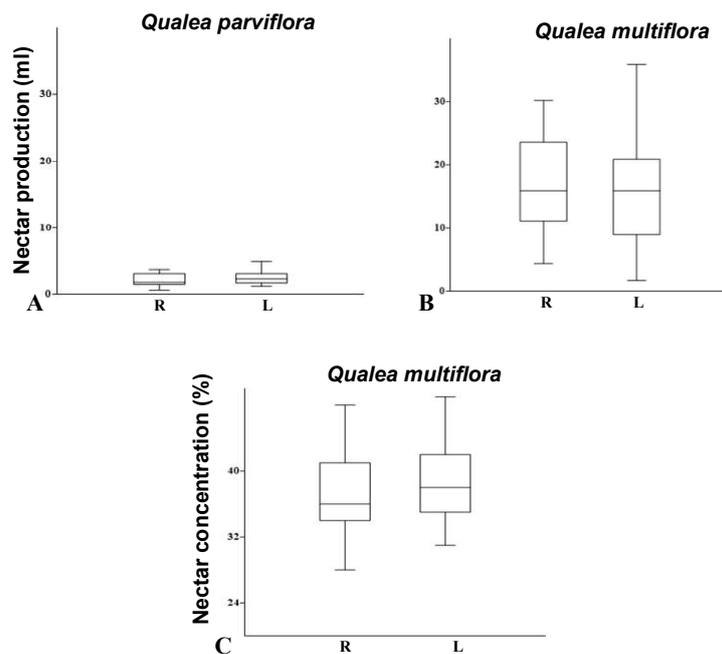


Figure 2 - Nectar production (μl) in both floral morphs of A) *Q. parviflora* collected in Catalão/GO, and B) *Qualea multiflora* collected in Pirenópolis/GO. C) Nectar concentration (%) measured in *Q. multiflora* collected in Pirenópolis/GO. R: right morph; L: left morph.

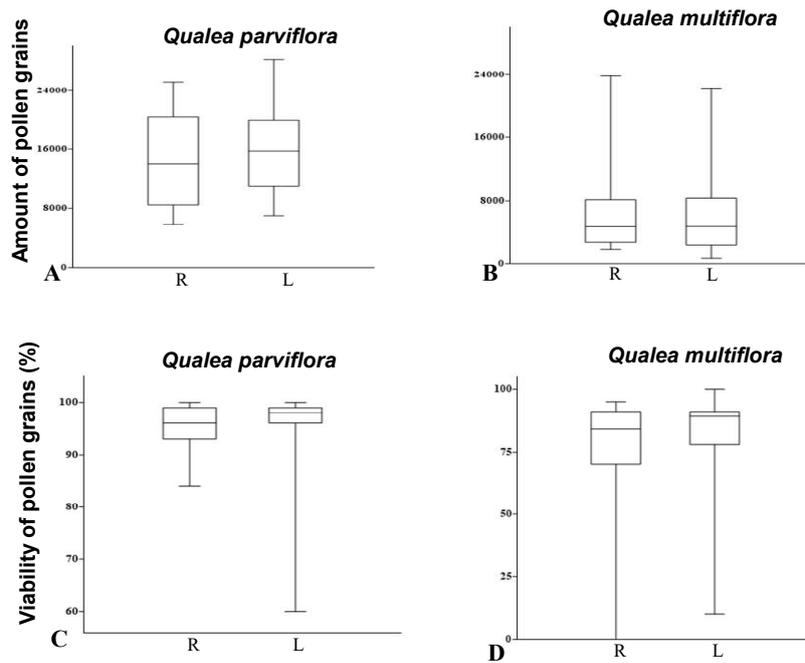


Figure 3 – Boxplots showing the amount of pollen grains in flowers of A) *Qualea parviflora* and B) *Q. multiflora* and the percentage of viable pollen grains in C) *Q. parviflora* and D) *Q. multiflora*. All flowers analysed were collected in Pirenópolis/GO. R: right morph; L: left morph.

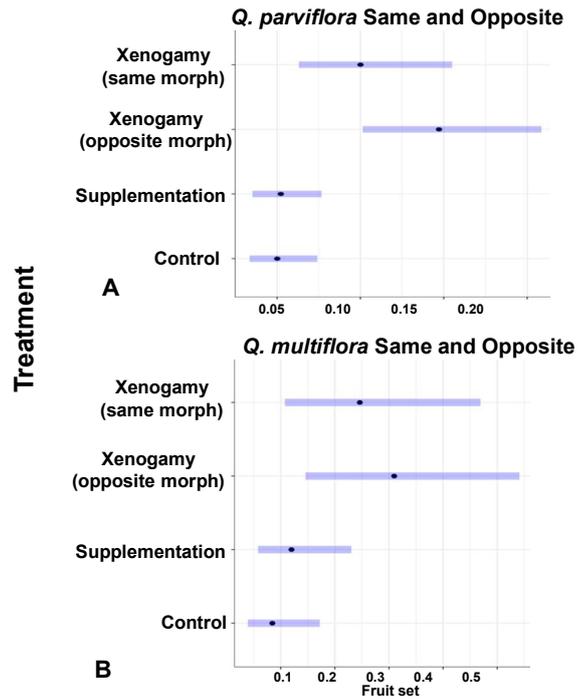


Figure 4 – Fruit set (number of fruits/flowers pollinated) after hand-pollinations in A) *Qualea parviflora*, and B) *Q. multiflora* in the Cerrado. Hand pollinations were performed in one population for *Q. parviflora* and one for *Q. multiflora* and control and supplementation were performed in three populations in each *Qualea* species. Data is shown as mean values and SD.

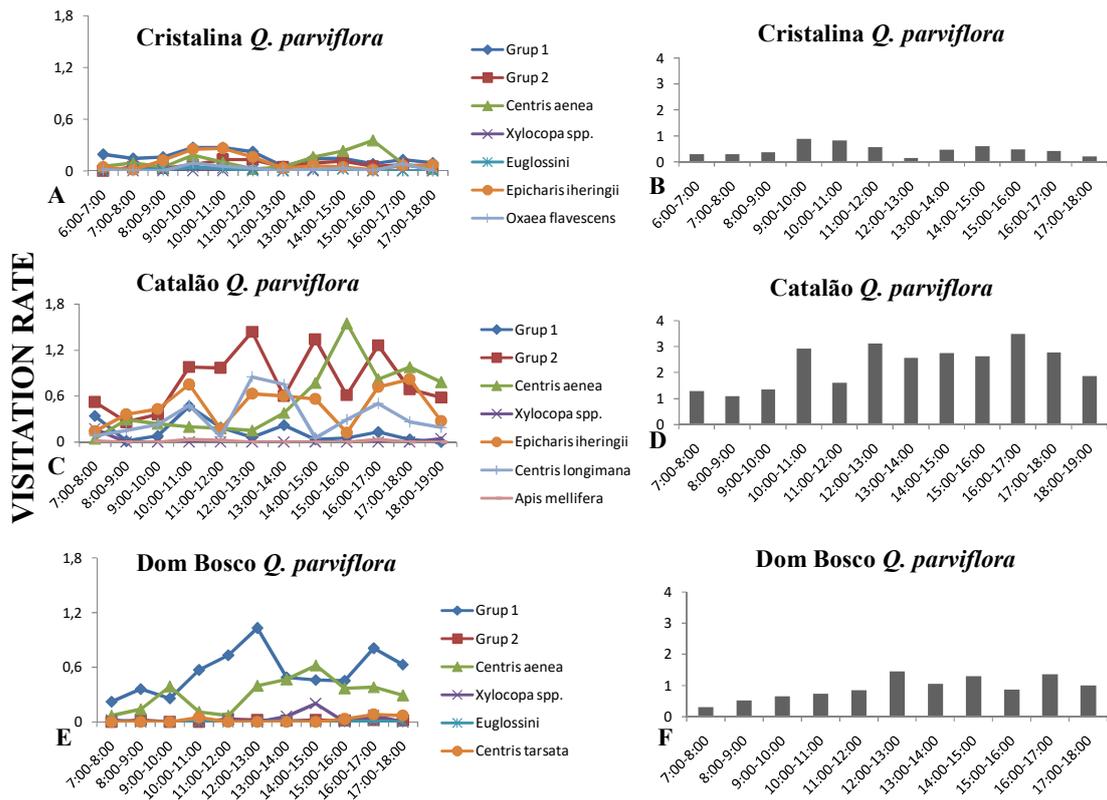


Figure 5 – Visitation rates on flowers of *Q. parviflora*. A, C and E referred to visitations rates separated by insect/group of insects. B, D and F: total visitation rates by time in the populations. A and B: Cristalina population. C and D: Catalão population. E and F: Ermida Dom Bosco population. Group 1: *Bombus brevivillus*, *B. morio*, *B. pauloensis*, *Centris scopipes*, *Epicharis dejeani*, *E. bicolor*, *E. flava* and *E. analis*. Group 2: *Exomalopsis fulvofasciata* and *Epicharis xanthogastra*; *Xylocopa* spp.: *Xylocopa (Dasyxylocopa) sp.*, *X. grisescens*, *X. hirsutissima*, *X. suspecta* and *X. subcyana*.

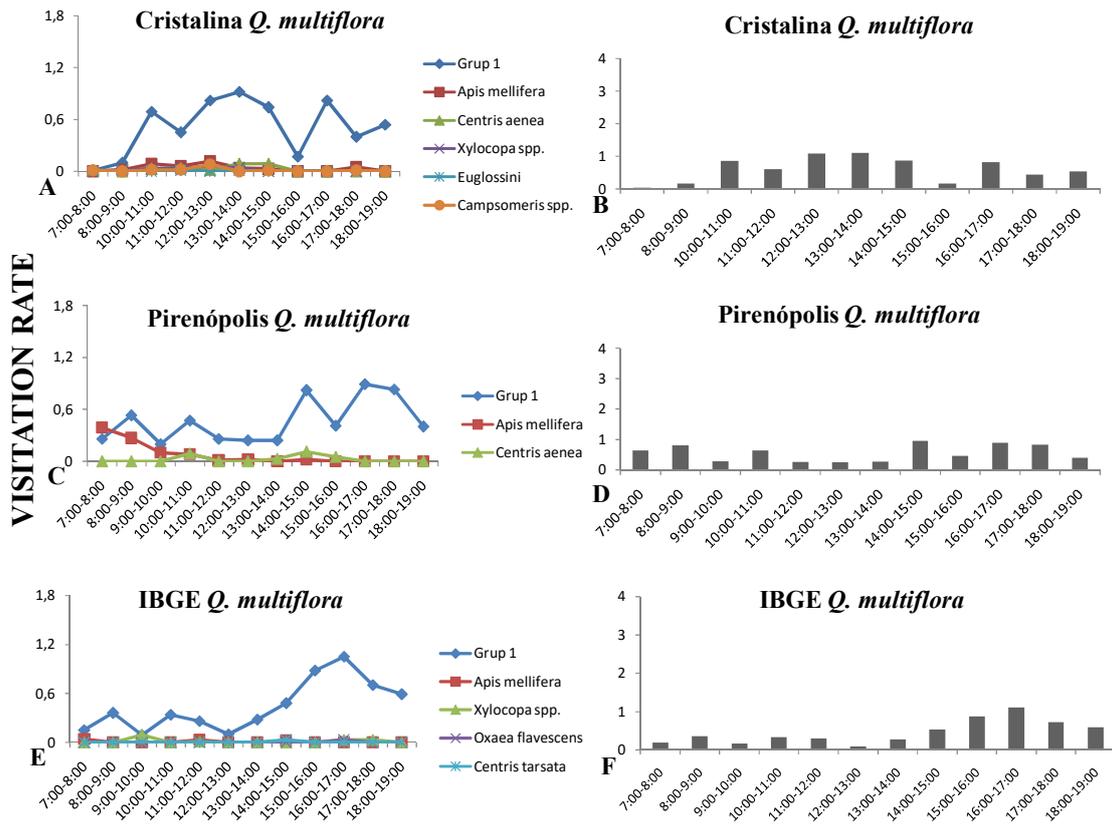


Figure 6 – Visitation rates on flowers of *Q. multiflora*. A, C and E, are rates separated by insect/group of insects by time. B, D and F: total visitation rates by time. A and B: population of Cristalina. C and D: population of Pirenópolis. E and F: IBGE population. Group 1: *Bombus brevivillus*, *B. morio*, *B. pauloensis*, *Centris scopipes*, *Epicharis dejeani*, *E. bicolor*, *E. flava* e *E. analis*. Group 2: *Exomalopsis fulvofasciata* e *Epicharis xanthogastra*; *Xylocopa* spp.: *X. grisescens*, *X. hirsutissima* e *X. suspecta*.

CAPÍTULO 3 – Eficácia da reciprocidade floral no fluxo de pólen na enantiostilia monomórfica.

Introdução

A enantiostilia é um polimorfismo floral no qual dentro da mesma espécie, existem duas formas florais que diferem na deflexão do estigma em relação ao eixo floral. Em um morfo floral, o estilete está disposto à direita e as anteras à esquerda, sendo essas flores ditas do morfo direito, e no outro morfo o estilete está à esquerda e as anteras à direita, denominado morfo esquerdo (Barrett 2002a; Jesson & Barrett 2003). A enantiostilia pode se apresentar de duas formas: dimórfica ou monomórfica. A forma dimórfica é caracterizada por ter indivíduos dentro da população que só apresentam flores voltadas para a direita e indivíduos que só apresentam flores voltadas para a esquerda (Barrett et al. 2000; Jesson & Barrett 2003; Jesson et al. 2003b). Já a enantiostilia monomórfica ocorre quando o mesmo indivíduo apresenta os dois morfos florais na mesma planta (Jesson & Barrett 2003).

A funcionalidade da enantiostilia está relacionada com o fluxo de pólen exógeno entre indivíduos. A existência de dois morfos diferentes, que formam uma imagem especular, permite que um polinizador seja efetivo na transferência de pólen de um morfo floral para outro (Barrett et al. 2000; Barrett 2002). Uma vez que o polinizador ao entrar em contato com o estigma de uma flor acumula pólen em uma região específica do corpo, a qual estará em contato com o estigma de uma flor do morfo oposto e o pólen, então, será depositado exatamente na região estigmática dessa flor (Barrett et al. 2000; Barrett 2002). Para que essa transferência de pólen entre a antera de um morfo para o estigma de outro morfo seja eficiente, é preciso que a posição entre os órgãos reprodutivos masculinos e femininos seja a mais recíproca possível (Almeida et al. 2013a,b). A enantiostilia monomórfica aumenta a eficácia de fluxo de pólen cruzado se comparado à ausência de enantiostilia, porém a enantiostilia dimórfica é ainda mais eficaz no fluxo de pólen cruzado (Jesson & Barrett 2002a).

Além de promover o fluxo de pólen intermorfo, a enantiostilia monomórfica também evita que as peças reprodutivas da flor, anteras e estigmas, sejam danificados devido à manipulação do polinizador durante a visita, uma vez que na enantiostilia essas peças estão deslocadas para direita ou esquerda e não no centro da flor (Graham & Barrett 1995). Por último, essa separação espacial da antera e estigma também evita que ocorra autopolinização e também diminui as chances de geitonogamia (cruzamentos

dentro da mesma planta) mesmo que o polinizador visite várias flores na mesma planta já que metade das flores são de um morfo e metade do outro (Dulberger & Ornduff 1980; Barrett et al. 2000).

A função da enantiostilia dimórfica promovendo o transporte de pólen entre morfos tem sido analisada em trabalhos anteriores (Barrett et al. 2000; Barrett 2002a; Jesson & Barrett 2002b,c; Jesson & Barrett 2003), contudo poucos estudos foram realizados sobre a funcionalidade da enantiostilia monomórfica (Fenster 1995; Barrett et al. 2000; Arceo-Gómez et al. 2010; Almeida et al. 2013a,b; 2015a,b), assim como as pressões seletivas que podem originar e manter este tipo de polimorfismo.

A família Vochysiaceae apresenta inúmeras espécies com ocorrência de enantiostilia, todas sendo monomórficas, como espécies dentro dos gêneros *Callisthene*, *Erisma*, outras *Qualea* (incluindo *Ruizterania*) e *Salvertia* (Barbosa 1983; Aveiro 1997; Santos 1997; Oliveira 1998; Dulmen 2001; Rodriguez & Sanoja 2008; Borges 2011; Andena et al. 2012; Soares et al. 2012; Carneiro 2013; Assunção et al. 2014; Custódio et al. 2014). Uma diferença na manifestação da enantiostilia em comparação a espécies de outras famílias é a de que Vochysiaceae apresenta anteras com aberturas longitudinais, em contraste com as anteras poricidas da maioria das espécies enantiostílicas, e o néctar como recurso para atração de polinizadores ao contrário de pólen, além das espécies da família não apresentarem heteranteria (diferença de função entre anteras sendo que algumas são utilizadas na polinização e outras utilizadas como fonte de recompensa para o visitante floral, Barrett 2002), pois possuem apenas uma antera funcional (Graham & Barrett 1995; Shimizu 2016).

Dentro da família Vochysiaceae, duas espécies arbóreas de ampla ocorrência nas savanas brasileiras, *Qualea parviflora* Mart. e *Qualea multiflora* Mart. apresentam enantiostilia monomórfica (Shimizu 2016). Utilizando estas espécies como modelo, temos como objetivo analisar como a enantiostilia favorece o fluxo de pólen entre morfos e indivíduos. Estudando aspectos de morfologia floral e biologia da polinização, pretendemos especificamente: 1. Avaliar a reciprocidade da hercogamia entre os morfos e como esta hercogamia afeta os níveis de autopolinização, polinização cruzada ilegítima entre flores do mesmo indivíduo e legítima entre flores de indivíduos diferentes; 2. Verificar se a reciprocidade promove uma deposição de pólen segregada no corpo do polinizador; 3. Estudar se há diferenças na eficiência dos diferentes tipos de polinizadores que visitam estas espécies.

Material e métodos:

Conduzimos nossos estudos em cinco populações de *Q. parviflora* e três de *Q. multiflora* entre os anos de 2015, 2016 e 2017. Em *Q. parviflora*, utilizamos quatro populações para morfologia floral e três para observação de visitantes florais. Contudo, devido a um incêndio entre as temporadas de coleta, uma das populações foi substituída e outra descartada, perfazendo três populações para visitantes florais, tanto para *Q. parviflora* quanto para *Q. multiflora*. As populações foram: 1) Parque Estadual da Serra dos Pireneus, Pirenópolis, Goiás – à partir de agora Pirenópolis/GO: *Q. parviflora*: 15°82'16"S, 48°90'92"W; *Q. multiflora*: 15°80'42"S, 48°87'53"W; 2) Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Linda Serra dos Topázios, Cristalina, Goiás à partir de agora Cristalina/GO: *Q. parviflora*: 16°73'84"S, 47°68'75"W; *Q. multiflora*: 16°74'51"S, 47°68'11"W; 3) Fazenda Pé do Morro, Universidade Federal de Goiás, Catalão, Goiás, à partir de agora – Catalão/GO: *Q. parviflora*: 18°11'63"S, 48°00'16"W; 4) Fazenda Água Limpa (FAL), Universidade de Brasília, Distrito Federal, à partir de agora FAL/DF: *Q. parviflora*: 15°94'86"S, 47°93'62"W; 5) Ermida Dom Bosco – Parque Ecológico Dom Bosco/DF, à partir de agora Dom Bosco/DF: *Q. parviflora*: 15°80'44"S, 47°80'76"W; e 5) Reserva Ecológica do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), Distrito Federal, à partir de agora IBGE/DF: *Q. multiflora*: 15°95'26"S, 47°87'21"W.

Para verificar o nível de reciprocidade entre os morfos, fotografamos 40 flores de 20 indivíduos por população (20 direita e 20 esquerda) de quatro populações de *Q. parviflora* (Cristalina/GO, FAL/DF, Catalão/GO e Pirenópolis/GO) e as três de *Q. multiflora* (Cristalina/GO, IBGE/DF e Pirenópolis/GO). Fotografamos as flores de *Q. parviflora* entre os meses de setembro e outubro de 2016 e de *Q. multiflora* entre os meses de outubro, novembro e dezembro de 2015. Para avaliar a reciprocidade entre antera e estigma em flores opostas utilizamos a distância do estigma ou da antera até um eixo floral representativo (Figura 1). Utilizamos o software *Image J* (disponível em <http://imagej.nih.gov/ij/>) para fazer as medições das distâncias antera-eixo floral e estigma-eixo floral. Propusemos as seguintes medições para verificar a morfometria das flores de ambas as espécies e se elas são recíprocas na posição de anteras e estigmas nos diferentes morfos: 1) Investigamos se a distância antera-eixo floral é igual entre morfos (Figura 1); 2) Se a distância estigma-eixo floral é igual entre morfos (Figura 1); 3) Se a distância antera-eixo floral é igual a distância estigma-eixo floral entre morfos (Figura 1); 4) para avaliar a reciprocidade, investigamos se a distância antera-eixo (Morfo D) é

igual a distância estigma-eixo (Morfo E), e chamamos de reciprocidade do lado direito (quando as flores são vistas de frente) (Figura 1). Da mesma forma, investigamos para o lado esquerdo (Figura 1).

Por fim, avaliamos se a distância antera-estigma é igual entre morfos (Figura 1) e se essa distância, quando comparada à distância intertegular (entre as tégulas dos insetos) dos visitantes florais (Figura 2B) influencia na eficácia de deposição de pólen no corpo do polinizador.

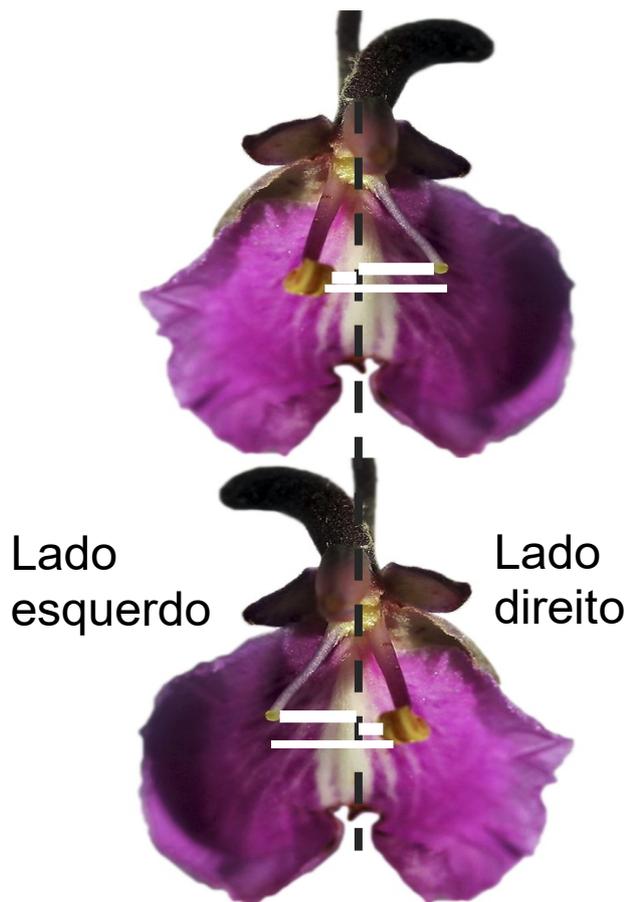


Figura 1 – Medidas tomadas para calcular a reciprocidade nas flores de *Qualea parviflora* e *Q. multiflora*. Acima flor de morfo direito e abaixo flor de morfo esquerdo. Traço horizontal branco corresponde à distância antera-eixo floral, estigma-eixo floral e antera-estigma. A linha tracejada vertical preta representa o eixo floral. Nas fotos, *Q. parviflora*.

Coletamos visitantes florais, durante os meses de outubro, novembro e dezembro de 2017, nas populações (Cristalina/GO, Catalão/GO e Dom Bosco/DF) de *Q. parviflora* e nas mesmas três populações de *Q. multifloras* que foram fotografadas as

flores. Coletamos os visitantes florais com ajuda de puçá, e sacrificamos em câmara mortífera com acetato de etila. Montamos os visitantes florais com alfinetes entomológicos, secamos em estufa por 3 dias, em temperatura constante de 35°C e estes foram identificados por especialistas. Todos os visitantes florais coletados foram depositados na Coleção Entomológica da Universidade de Brasília (UnB) – Brasília/DF.

Nas três populações de *Q. parviflora* coletamos os visitantes florais por cerca de 10 horas em cada população, e em *Q. multiflora* coletamos por 6 horas em cada população. Com auxílio de um paquímetro digital medimos a distância intertegular do corpo das abelhas e vespas coletadas (Figura 2A). Comparamos então a distância intertegular das abelhas e vespas com a distância antera-estigma nas flores (Figura 1) para verificar quais visitantes apresentam maior potencial de transferir pólen entre morfos florais. Com base em nossas observações em campo, insetos com diferentes distâncias intertegulares podem tocar anteras e estigmas em partes diferentes do corpo. Por isso, esperamos que os insetos que apresentem distância intertegular mais próximo da distância antera-estigma de cada espécie de *Qualea*, possivelmente apresentem mais pólen depositado na lateral do corpo (Figura 2B lateral). Os insetos que são muito grandes em relação à essa distância antera-estigma, possivelmente apresentam uma maior quantidade de grãos de pólen depositados no ventre (Figura 2B ventre) e os insetos que apresentam uma distância intertegular reduzida, em comparação à distância antera-estigma, possivelmente apresentam uma maior deposição de pólen acima da cabeça (Figura 2B cabeça).

Após a coleta e identificação das abelhas visitantes das plantas, averiguamos a presença de pólen nas regiões específicas do corpo das abelhas, por meio da retirada de pólen com “gelatina com carmin” e montagem de lâminas semi-permanentes de cada uma das três regiões possíveis de deposição de pólen no corpo dos insetos: lateral, cabeça e ventre (Figura 2B) de ambos os lados dos insetos. Observamos as lâminas montadas em microscópio óptico com aumento de 10X onde pudemos verificar a presença/ausência de pólen das referidas espécies no corpo das abelhas e também contabilizar a quantidade de grãos de pólen presentes. Apesar de ambas espécies terem visitantes florais em comum, a floração não ocorre ao mesmo tempo nas mesmas populações e como constatamos por meio de observações em lâminas de pólen de botões florais, que entre as espécies de *Qualea* os grãos de pólen apresentam tamanhos visualmente diferentes, pudemos comparar com amostras coletadas em botões florais

das espécies e assim fazer a identificação dos grãos de pólen das espécies no corpo do visitantes florais.

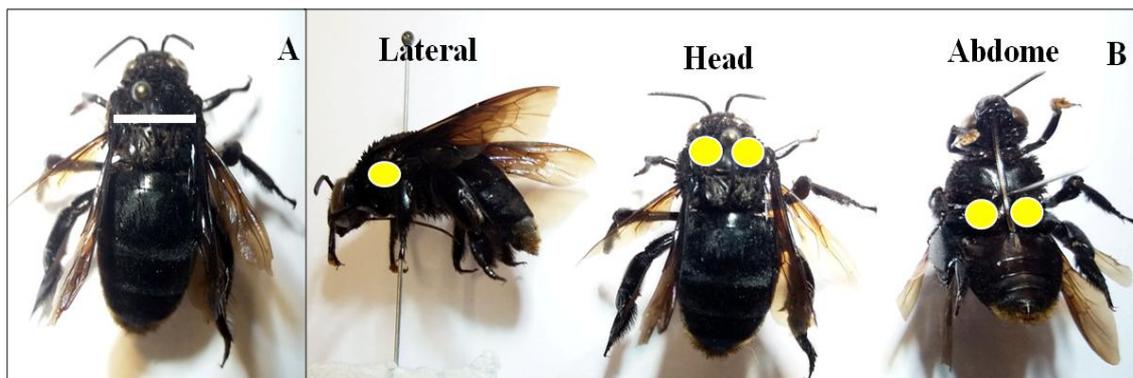


Figura 2 – (A) Posições de possível deposição de pólen: lateral, cabeça e ventre e (B) distância intertegumentar do corpo das abelhas.

Para verificar a transferência de pólen entre morfos, realizada pelos polinizadores, conduzimos um experimento utilizando pó fluorescente. Durante 10 dias em outubro de 2017, conduzimos esse experimento em uma população de *Q. parviflora* em Cristalina/GO. Utilizamos um indivíduo com cerca de 170 flores (média de flores abertas por dia) como doador de pó fluorescente. Nele colocamos pó fluorescente em várias flores (ver abaixo). Como as flores podem durar até 2 dias, a cada dia colocamos pó em flores novas. Após 6 horas verificamos a deposição de pó nos estigmas das flores desse indivíduo doador (para verificar a geitonogamia) e também em outros indivíduos próximos ao doador (cerca de 8 árvores que variavam de 6 a 22 metros de distância da planta doadora) a fim de verificar a xenogamia. Geitonogamia aqui se refere à transferência de pólen entre flores de um mesmo indivíduo (Barrett 2003).

Avaliamos se a separação espacial promove o fluxo de pólen entre morfos mediante dois experimentos em que manipulamos a posição das anteras e dos estigmas nas flores. No experimento 1 colocamos diariamente pó fluorescente, verde ou rosa, uma cor diferente para cada morfo, nas anteras de 30 flores direitas e 30 flores esquerdas do indivíduo foco, durante 10 dias (Figura 3A e B). Durante o experimento invertemos as cores do pó fluorescente entre os morfos nos distintos dias para nos certificarmos de que as abelhas visitariam as flores, independentemente da cor do pó utilizado. No experimento 2 (que teve uma duração de 8 dias), colocamos pó fluorescente azul em 30 flores com as peças florais reprodutivas unidas com uma linha (Figura 3C). No mesmo

indivíduo doador unimos as peças florais de outras 30 flores onde não colocamos pó fluorescente (Figura 3D) para simularmos uma condição de uma flor não enantiostílica.



Figura 3 – Flores de *Qualea parviflora* com pó fluorescente colocado sobre as anteras. A - Flor direita com pó fluorescente verde na antera; B - flor esquerda com pó fluorescente rosa na antera; C - flor com as peças florais reprodutivas unidas simulando a condição não enantiostílica com pó fluorescente azul; e D - flores simulando a condição não enantiostílica sem pó fluorescente (para serem receptoras de pó).

Deixamos que os visitantes florais visitassem as flores e após algumas horas (de 4 a 6 horas, no período de maior quantidade de visitas) observamos se havia presença de pó fluorescente nos estigmas das flores com ajuda de lanterna de luz negra e lupa de bolso. Observamos se havia deposição de pó fluorescente no estigma de flores de mesmo morfo e de morfo oposto na planta doadora e assim verificamos se a enantiostilia evita que a flor receba autopólen e se diminui a chegada de pólen

geitonogâmico. Observamos também se as plantas vizinhas receberam pó fluorescente nos estigmas para verificar a chegada de pólen externo tanto em flores de mesmo morfo quanto em flores de morfo oposto. Além disso, observamos se havia pó fluorescente das flores com as peças florais unidas, simulando a condição não enantiostílica. Contabilizamos as porcentagens de flores que receberam pó fluorescente.

Análises dos dados

Morfometria floral

Para cada uma das espécies, testamos se a disposição da antera e do estigma em relação ao eixo floral variam entre morfos, bem como a distância entre antera e estigma. Para cada uma das variáveis resposta, ajustamos modelos com o morfo floral como variável preditora. Testamos a existência de variações entre as populações estudadas através da comparação, por teste de razão de verossimilhança, entre um modelo linear misto (contendo a identidade da população como fator aleatório) e um modelo linear simples. Sempre que a inclusão do fator “população” não aumentasse significativamente a verossimilhança do modelo, utilizamos na interpretação os modelos simples. Testamos se há reciprocidade entre morfos na posição das peças florais do lado direito (estigma no morfo direito e antera no morfo esquerdo) e no lado esquerdo das flores (anteras no morfo direito e estigma no morfo esquerdo) ajustando modelos com a distância entre a peça floral e o eixo como variável resposta e o morfo floral como variável preditora. Modelos separados foram ajustados para o lado direito e o lado esquerdo das flores.

Deposição do pólen no corpo do polinizador

Testamos se a diferença entre a distância intertegular das abelhas e a distância antera-estigma influencia a quantidade de pólen depositado e o local de maior deposição. Utilizamos os valores de distância antera-estigma estimados nos modelos de morfometria floral para calcular a diferença de tamanho entre a abelha e flor. Nos casos em que detectamos diferenças entre as populações, valores específicos da distância antera-estigma foram utilizados para as abelhas provenientes de cada população. Como para *Q. parviflora* houve variação na distância antera-estigma entre populações e não houve coleta de polinizadores na localidade FAL/DF, utilizamos a distância estimada para a população Dom Bosco/DF por ser a mais próxima.

Calculamos a quantidade de pólen depositado como a soma do número de grãos de pólen na cabeça, ventre e lateral das abelhas, tanto do lado direito como do lado esquerdo. Ajustamos modelos lineares generalizados mistos com a quantidade de pólen como variável resposta e a diferença entre a distância intertegumentar do indivíduo e a distância antera-estigma estimada para a população. Uma vez que a variável resposta é uma contagem, foi escolhida a família Poisson com função de ligação log. Considerando que nossa hipótese era a de que abelhas com distância intertegumentar mais próximas da distância antera-estigma seriam polinizadores mais eficientes e receberiam mais pólen, incluímos no modelo também o quadrado da diferença da distância intertegular, a fim de modelar uma relação unimodal entre as variáveis. Testamos a existência de variações entre as populações estudadas através da comparação, por teste de razão de verossimilhança, entre um modelo linear misto (contendo a identidade da população como fator aleatório) e o modelo linear simples. Sempre que a inclusão do fator “população” não aumentasse significativamente a verossimilhança do modelo, utilizamos na interpretação os modelos simples.

Para testar se a diferença da distância intertegular influencia o local de deposição do pólen, codificamos para cada indivíduo o local com maior quantidade pólen (cabeça, ventre ou lateral) considerando a soma dos lados direito e esquerdo. Ajustamos modelos multinomiais com o local de maior deposição como variável resposta e a diferença de distância intertegular como variável preditora.

Para testar se tem diferença de deposição de pólen no lado direito ou esquerdo do corpo dos visitantes florais, ajustamos um Modelo generalizado misto com distribuição Poisson comparando o número de grãos de pólen nas diferentes posições (cabeça, ventre e lateral) para os visitantes de cada espécie e em cada lado das abelhas. Incluímos o indivíduo como fator aleatório de modo a comparar os lados e posições em cada indivíduo. Fizemos também a mesma análise, porém separando os polinizadores em quatro grupos de acordo com a distância intertegular e representatividade nas populações. No grupo 1, incluímos abelhas grandes e que visitam as flores de forma um pouco mais lenta e visita flores consecutivas da mesma planta: *Bombus brevivillus*, *B. morio*, *B. pauloensis*, *Centris scopipes*, *Epicharis dejeani*, *E. bicolor*, *E. flava*, *E. analis* e as vespas do gênero *Campsomeris* sp. No grupo 2 incluímos as espécies de *Xylocopa*, com a maior distância intertegular dentre os insetos coletados. No grupo 3 incluímos a espécie *Centris aenea* por ser muito representativa, sobretudo nas populações de *Q. parviflora* e por mostrar um comportamento um pouco diferente das outras abelhas

coletadas. Essa espécie de abelha visita poucas flores por vez e são muito rápidas. E o grupo 4 foi composto pelas demais abelhas coletadas. A lista completa das abelhas e a qual grupo pertence encontra-se no Anexo 4.

As análises foram realizadas no software R (R Core Team 2018), usando funções dos pacotes lme4 (Bates et al. 2015), lmerTest (Kuznetsova et al. 2017), ggplot2 (Wickham 2016) e nnet (Venables & Ripley 2002).

Fluxo de pólen

Avaliamos o fluxo de pólen de forma qualitativa, considerando presença-ausência de pó fluorescente nos estigmas. Contabilizamos quantas flores, dentre as cerca de 170 disponíveis na árvore por dia, receberam pó fluorescente proveniente de flor de mesmo morfo ou de morfo oposto. Avaliamos ainda se havia presença de pó fluorescente em flores de árvores próximas (cerca de 8 árvores que variavam de 6 a 22 metros de distância da planta doadora) a fim de contabilizar o fluxo de pólen xenogâmico.

Resultados:

Em relação às distâncias entre os órgãos sexuais e o eixo floral nós encontramos que a distância antera-eixo floral é constante entre os morfos E e D (*Q. parviflora*: $t = -0.925$, $P = 0.357$, Figura 4A; *Q. multiflora*: $t = 0.247$, $P = 0.806$, Figura 4C). A avaliação da morfometria floral revelou que a distância antera-eixo floral não varia também entre as populações das espécies estudadas (*Q. parviflora*: $X^2 < 0.001$, $P > 0.999$; *Q. multiflora*: $X^2 = 0.786$, $P = 0.375$, Anexo 2). Do mesmo modo, a distância estigma-eixo floral é constante entre os morfos E e D (*Q. parviflora*: $t = 0.336$, $P = 0.737$, Figura 4B; *Q. multiflora*: $t = -1.115$, $P = 0.268$, Figura 4D) e não varia entre as populações estudadas (*Q. parviflora*: $X^2 = 3.782$, $P = 0.052$; *Q. multiflora*: $X^2 < 0.001$, $P > 0.999$).

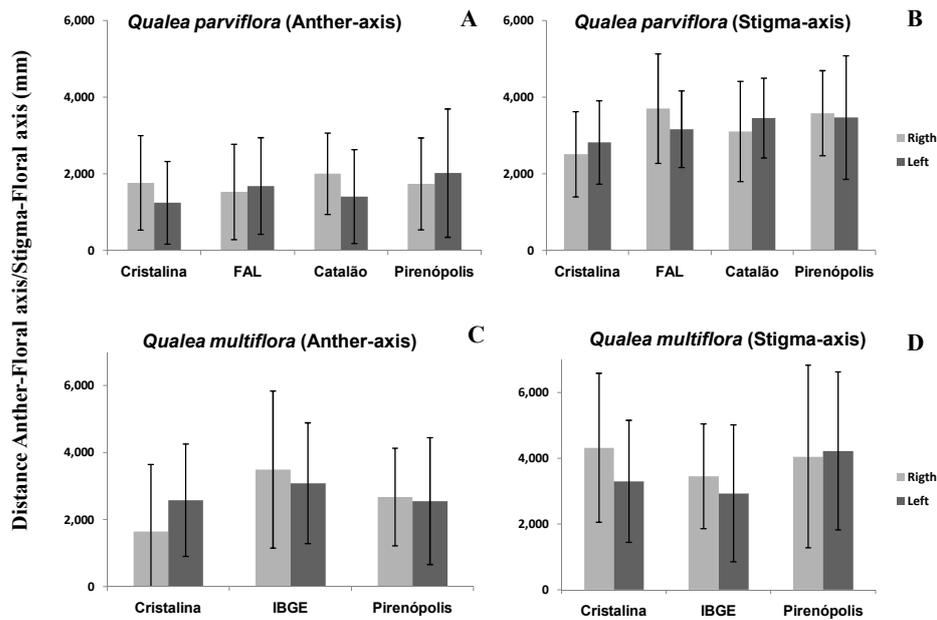


Figura 4 – Distância entre as peças reprodutivas florais e o eixo floral em populações de *Qualea parviflora* e *Q. multiflora*. *Q. parviflora*: A – Distância antera-eixo floral, B – Distância estigma-eixo floral. *Q. multiflora*: C – Distância antera-eixo floral, D – Distância estigma-eixo floral.

As flores de *Q. parviflora* e *Q. multiflora* se mostraram divergentes quanto a reciprocidade das peças reprodutivas, estimada para o lado direito (estigma do morfo direito e antera do morfo esquerdo) e no lado esquerdo das flores (antera no morfo direito e estigma no morfo esquerdo). Em *Q. parviflora* não existe reciprocidade entre antera e estigma nos lados da flor, tanto no lado direito quanto no lado esquerdo, e sempre com a antera mais próxima ao eixo floral do que o estigma. Em *Q. parviflora*, a distância entre a peça floral e o eixo floral não apresenta variação significativa entre as populações estudadas ($X^2 = 0.003$, $P = 0.958$) no lado direito, mas comparando as populações juntas a antera se encontra, em média, 1.44 mm mais próxima ($t = 7.813$, $P < 0.001$, Figura 5B) do eixo floral do que os estigmas. Já no lado direito a distância entre a peça floral e o eixo floral apresenta uma variação significativa entre as populações estudadas ($X^2 = 5.018$, $P = 0.025$). Assim como no lado esquerdo, as anteras do lado direito (flores de morfo esquerdo) se encontram mais próximas do eixo do que os estigmas (flores de morfo direito), cerca de 1.56 mm mais próxima ($t = -7.715$, $P < 0.001$, Figura 5A). Já em *Q. multiflora* existe reciprocidade entre as peças florais do

lado esquerdo da flor, porém essa reciprocidade não é vista do lado direito, com anteras novamente sendo mais próximas ao eixo do que o estigma. Contudo as distâncias antera-eixo floral e estigma-eixo floral e distância antera-estigma são constantes entre os morfos florais (Anexo 2).

Ao contrário do observado em *Q. parviflora*, em *Q. multiflora* existe uma reciprocidade entre as peças florais do lado esquerdo da flor, sem diferenças significativas nas distâncias entre anteras (flores de morfo direito) e estigmas (flores de morfo esquerdo) ($t = 1.973$, $P < 0.052$, Figura 5D). No lado direito, não observamos variação entre as populações ($X^2 < 0.001$, $P > 0.999$). Ao contrário do lado esquerdo, as anteras do lado direito (flores de morfo esquerdo) se encontram mais próximas do eixo do que os estigmas (flores de morfo direito), cerca de 1.33 mm mais próxima ($t = -2.986$, $P = 0.004$, Figura 5C). Em *Q. multiflora* a reciprocidade mostrou que no lado esquerdo a distância entre a peça floral e o eixo floral não apresenta variação significativa entre as populações estudadas ($X^2 = 0.521$, $P = 0.470$).

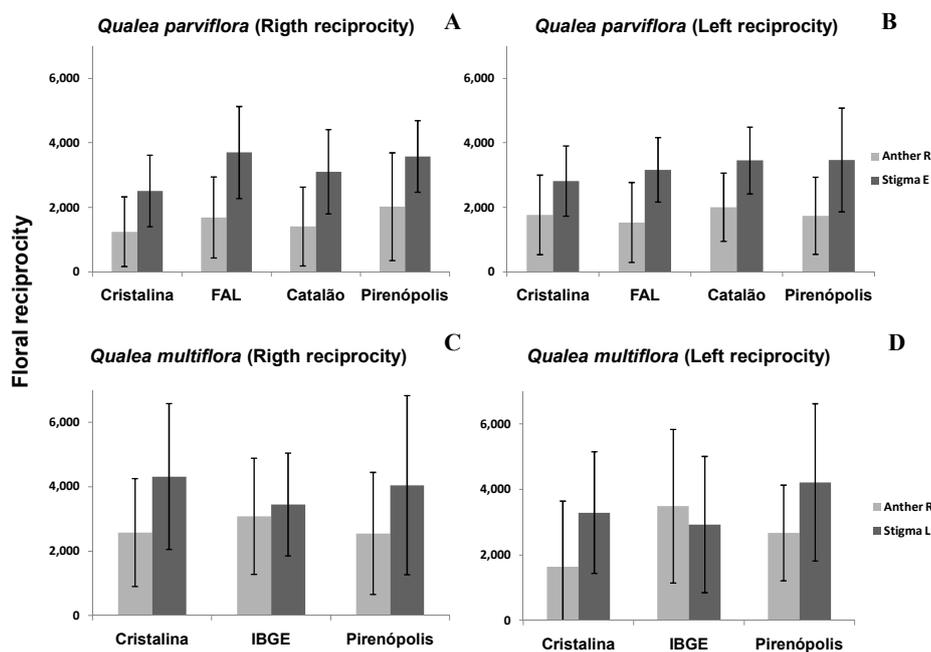


Figura 5 – Reciprocidade estimada entre as peças florais reprodutivas e o eixo floral, de cada lado das flores, em populações de *Qualea parviflora* e *Q. multiflora*. *Q. parviflora*: A – Reciprocidade do lado direito (antera de flor esquerda e estigma de flor direita), B – Reciprocidade do lado esquerdo (antera de flor direita e estigma de flor esquerda). *Q. multiflora*: C – Reciprocidade do lado direito (antera de flor esquerda e estigma de flor

direita), D – Reciprocidade do lado esquerdo (antera de flor direita e estigma de flor esquerda).

Medimos a distância antera-estigma com o intuito de comparar com a distância intertegumentar do corpo do polinizador e assim inferir qual ou quais polinizadores tem a maior capacidade de transferir pólen entre os morfos florais de cada espécie. Encontramos que a distância antera-estigma é constante entre os morfos E e D em *Q. parviflora* ($t = -0.461$, $P = 0.646$, Figura 6A). Também encontramos uma variação na distância antera-estigma entre as populações ($X^2 = 10.45$, $P = 0.001$). Já em *Q. multiflora* não houve variação significativa na distância antera-estigma entre os morfos E e D ($t = -1.115$, $P = 0.268$, Figura 6B) e nem entre as populações ($X^2 < 0.001$, $P > 0.999$).

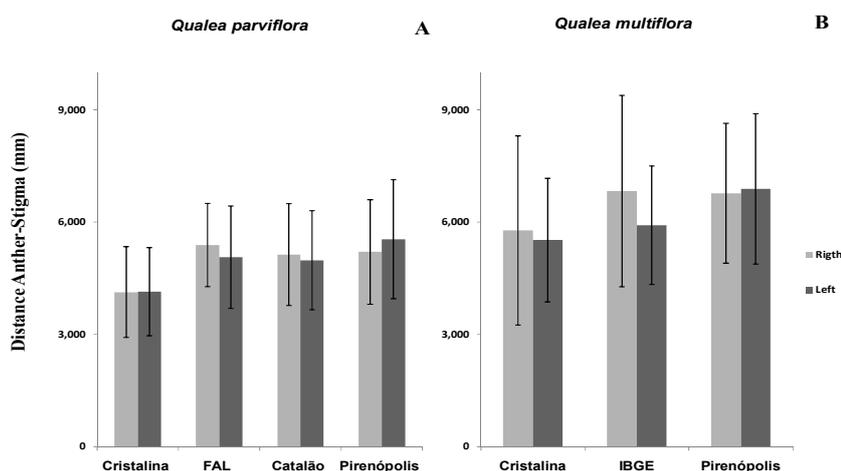


Figura 6 – Distância entre as peças reprodutivas florais, antera e estigma, em populações de *Qualea parviflora* e *Q. multiflora*. A – Distância antera-estigma em *Q. parviflora*; B – Distância antera-estigma em *Q. multiflora*.

Polinizadores

Em *Q. parviflora* a deposição de pólen no corpo das abelhas mostrou que visitantes florais com distância intertegumentar 2.68 mm maior do que a distância antera-estigma apresentaram maior quantidade de pólen no corpo (173.58 – 555.22 grãos). Para *Q. multiflora* a maior quantidade de pólen (439.04 – 1150.56 grãos) foi observada em abelhas com distância intertegumentar 3.64 mm maior do que a distância antera-estigma (Figura 7, Anexo 4).

A relação entre a distância intertegumentar das abelhas e a quantidade de pólen depositada em seus corpos apresentou uma variação significativa entre as populações estudadas tanto para *Q. parviflora* quanto para *Q. multiflora* (*Q. parviflora*: $X^2 = 2792.4$, $P < 0.001$; *Q. multiflora*: $X^2 = 3757$, $P < 0.001$). Para ambas as espécies de *Qualea*, foi observada uma relação unimodal entre a diferença da largura antera-estigma com a distância intertegumentar da abelha e a quantidade de pólen encontrado no corpo da abelha, em que abelhas mais próximas de um tamanho ótimo apresentaram maior quantidade de pólen (*Q. parviflora*: $Z = -33.37$, $P < 0.001$; *Q. multiflora*: $Z = -46.00$, $P < 0.001$; Figura 7A e 7B). Em *Q. parviflora*, as abelhas com a diferença de distância intertegular em relação à distância antera-estigma variando entre 0.0 mm e 2.68 mm maior do que a distância antera-estigma apresentaram maior quantidade de pólen (média[IC de 95%] = 310.44 [173.58 – 555.22], Figura 7A), enquanto que para *Q. multiflora* a maior quantidade de pólen (média [IC de 95%] = 708.3 [439.04 – 1150.56], Figura 7B) foi observada em abelhas com distância intertegular variando de 0.0 mm a 3.64 mm maior do que a distância antera-estigma. A lista completa dos insetos coletados e a sua distância intertegular encontra-se no Anexo 4.

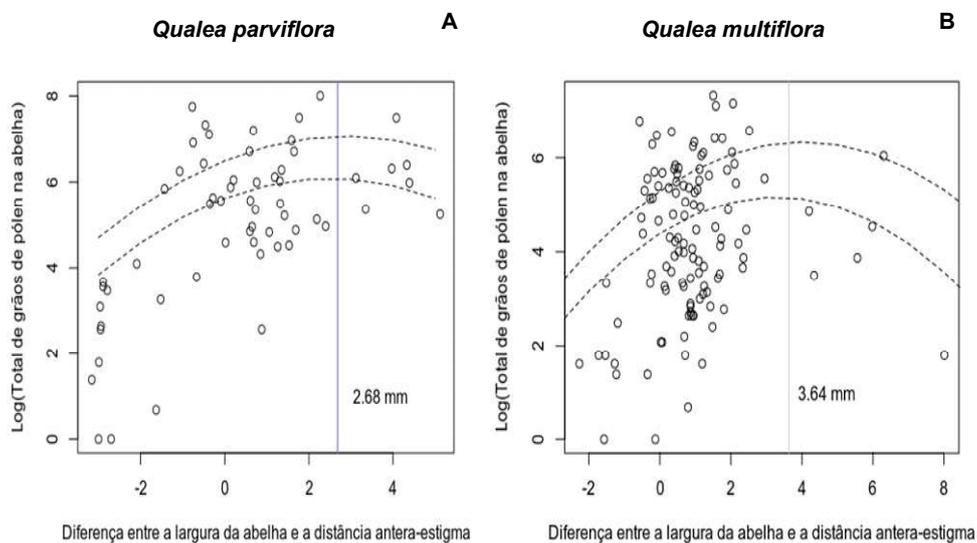


Figura 7 – Logaritmo do número de grãos de pólen em função da diferença entre a distância intertegular da abelha e a distância antera-estigma para A – *Q. parviflora* e B – *Q. multiflora*. A relação apresentada no gráfico é apenas ilustrativa e não leva em consideração a variância entre populações.

Considerando todas as espécies de visitantes florais juntas, a relação entre a distância intertegular da abelha e a distância antera-estigma não influenciou o local de maior deposição do pólen, nem para *Q. parviflora* (cabeça vs lateral: $Z = 0.12$, $P = 0.91$; ventre vs lateral: $Z = 1.01$, $P = 0.31$) e nem para *Q. multiflora* (cabeça vs lateral: $Z = -1.47$, $P = 0.14$; ventre vs lateral: $Z = -0.03$, $P = 0.972$) sendo que o esperado era que abelhas maiores poderiam ter mais pólen no ventre e abelhas menores poderiam ter mais pólen na cabeça. Mas o lado com maior quantidade de pólen variou de acordo com a posição analisada para todas as abelhas em geral. Observamos diferenças significativas na quantidade de pólen nas diferentes posições e lados das abelhas (Anexo 2), sendo que o lado com mais pólen varia entre cada parte do corpo ($X^2 = 452.8$, $P < 0.001$, Figura 8A). Em *Q. parviflora*, no ventre e na cabeça tem mais pólen no lado esquerdo, enquanto que na lateral tem mais pólen do lado direito. Da mesma forma em *Q. multiflora* o lado com mais pólen varia entre cada parte do corpo ($X^2 = 338.79$, $P < 0.001$, Figura 8B). Em *Q. multiflora*, no ventre e na lateral tem mais pólen no lado esquerdo, enquanto que na cabeça tem mais pólen do lado direito (Anexo 2).

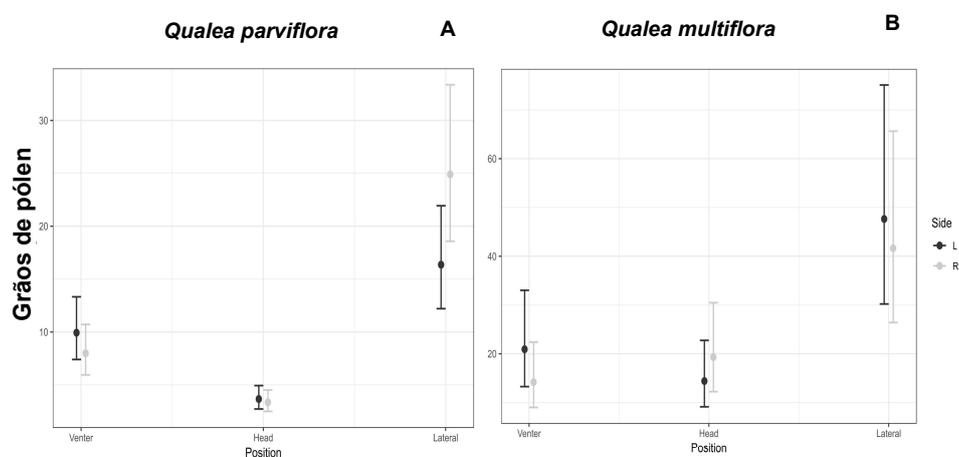


Figura 8 – Deposição de pólen nas diferentes partes do corpo das abelhas. A - deposição de pólen nas abelhas que visitaram *Q. parviflora*. B - Deposição de pólen no corpo das abelhas que visitaram *Q. multiflora*.

Quando separamos em grupos de polinizadores encontramos que o lado direito e esquerdo diferem entre as regiões do corpo sendo que a deposição varia de acordo com a posição do corpo do visitante floral, com o grupo de polinizador e com a espécie de *Qualea* visitada (Anexo 3). A deposição na lateral do corpo é maior do que no ventre e

na cabeça para os visitantes florais de ambas as espécies de *Qualea*. Os grupos 2 (*Xylocopa* spp.) e 3 (*Centris aenea*) apresentaram a maior quantidade de pólen nas três regiões do corpo se comparados aos grupos 1 (Abelhas pretas grandes) e 4 (demais abelhas com tamanho corporal reduzido), contudo apenas o grupo 4 teve diferença significativa em relação aos outros apresentando menos pólen que os demais (Sumário dos resultados no Anexo 1, Figura 9).

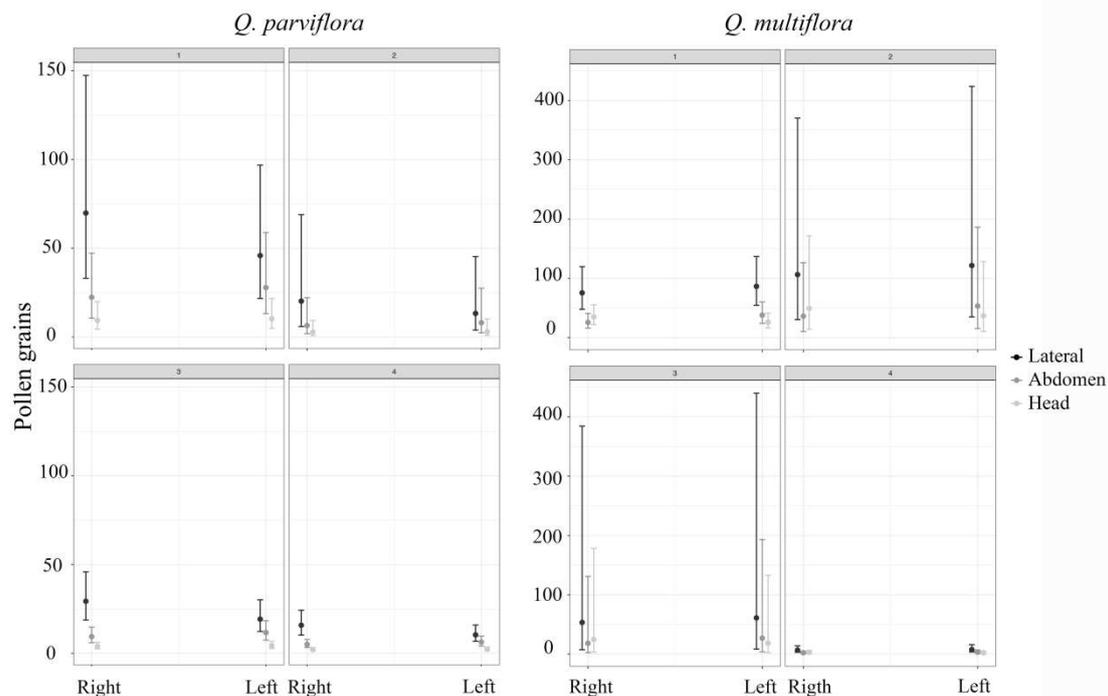


Figura 9 – Deposição de grãos de pólen nas diferentes partes do corpo dos visitantes florais de *Qualea parviflora* e *Q. multiflora*. Partes do corpo separadas em lateral, ventre e cabeça. Visitantes florais separados por grupos de insetos. (Grupo 1: abelhas grandes, lentas e que vibram; Grupo 2: *Xylocopa* spp.; Grupo 3: *Centris aenea*; Grupo 4: demais abelhas, menores).

Os experimentos com pó fluorescente realizados na população Cristalina/GO de *Q. parviflora* mostraram que nenhuma flor recebeu pólen no estigma proveniente de mesmo morfo, nem por autopólen (mesma flor), nem por geitonogamia (flor do mesmo indivíduo). Também não observamos nenhum pólen proveniente de flores simulando a condição não enantioestílica nos estigmas de nenhuma flor. Nem no indivíduo doador e nem dos indivíduos próximos. Em 4 dos 10 dias totais de experimento não observamos

pó fluorescente no estigma de nenhuma flor. Nos outros 6 dias do experimento observamos a presença de pó fluorescente apenas nos estigmas do próprio indivíduo doador de pó. Não observamos pó fluorescente nos indivíduos próximos em nenhum dia de experimento. Contudo, todas as flores que receberam pó fluorescente no estigma, receberam de morfo oposto. Em nenhum dia de experimento observamos pó nos estigmas provenientes de flor de mesmo morfo.

No total de observações verificamos a presença de pó fluorescente no estigma de 14 flores de morfo direito e em 16 flores de morfo esquerdo, sempre proveniente de morfo oposto (Tabela 1). A árvore apresentava cerca de 170 flores por dia e como a espécie apresenta uma proporção de 1:1 entre morfos, à cada dia observamos cerca de 85 flores por dia.

Tabela 1– Transferência de pó fluorescente entre morfos florais dentro do mesmo indivíduo.

Dia de experimento	Flor direita com pó esquerdo	Flor esquerda com pó direito	Flor não enantiostílica (tratamento 2)
1	0	0	-
2	0	0	-
3	4 (0.05%)	3 (0.04%)	0
4	4 (0.05%)	5 (0.06%)	0
5	2 (0.02%)	3 (0.04%)	0
6	0	0	0
7	2 (0.02%)	3 (0.04%)	0
8	2 (0.02%)	1 (0.01%)	0
9	0	0	0
10	0	1 (0.01%)	0
Total	14 (0.16%)	16 (0.18%)	0

Discussão

As flores de *Q. parviflora* e *Q. multiflora* são divergentes quanto à reciprocidade das partes reprodutivas. Em *Q. parviflora* não há reciprocidade entre antera e estigma nos dois lados da flor. Já em *Q. multiflora* existe reciprocidade entre as partes florais apenas no lado esquerdo da flor. A reciprocidade é especialmente importante em espécies enantiostílicas que depositam diretamente o pólen no corpo do polinizador,

como no presente estudo. Em espécies de *Chamaecrista* e outras *Cassiinae* a deposição de pólen no corpo polinizador pode ocorrer indiretamente, devido ao "ricochete" que é um mecanismo no qual uma pétala envolve as partes florais e somente com o comportamento do polinizador a pétala se abre e a vibração do polinizador, no caso das abelhas, promove o movimento do pólen em direção à pétala, de modo que o pólen "ricocheteia" nela e é depositado no dorso do polinizador (Bahadur et al. 2007, Arcéo-Gomez et al. 2012, Almeida et al. 2013, 2015a).

Nestas flores de pólen, o comportamento da abelha durante a visita garante que o pólen chegue com precisão no corpo do polinizador, pois a deposição do pólen depende do ângulo do ricochete na pétala da flor e não especificamente da posição das anteras e estigmas. Nestes casos de polinização por ricochete, como as anteras são poricidas, há necessidade de polinização por vibração para remover o pólen das anteras. Portanto, não há tanta influência da posição dos órgãos sexuais, mas do ângulo do ricochete. Nas *Qualea* spp estudadas aqui a reciprocidade foi medida na única antera funcional e esta disposição recíproca é importante, principalmente pela deposição de pólen no corpo do polinizador ser direta. Dessa forma o local do corpo do polinizador onde o pólen de um morfo é depositado deverá ser exatamente o mesmo local que irá tocar o estigma de uma flor de morfo oposta em uma próxima visita.

Outro fato importante em *Qualea* spp é que o recurso que os polinizadores buscam em suas flores é o néctar armazenado no calcar e geralmente as flores enantiofilicas apresentam pólen como recurso dos polinizadores. Insetos que visitam espécies de *Cassiinae* e *Solanum*, por exemplo, geralmente estão em busca de pólen. Estas espécies possuem anteras com aberturas poricidas em contraste com as espécies de *Qualea* que apresentam anteras longitudinais. Espécies de plantas com antera poricida geralmente apresentam uma grande quantidade de pólen, como as espécies de *Solanum* (*Solanaceae*) que podem apresentar de 750.000 a 12.500.000 grãos por flor, divididos entre as anteras (Vallejo-Marín et al. 2014) o que é importante já que muito do pólen é perdido no momento da remoção. Embora as espécies de *Qualea* estudadas aqui tenham um número médio muito menor de pólen por flor (entre 5.700 e 28.000 em *Q. parviflora* e 1.700 e 23.800 em *Q. multiflora*) este pólen é suficiente para efetivamente polinizar as flores da população (dados não publicados). Testes de suplementação de pólen mostraram que a quantidade de pólen que chega às flores de *Q. parviflora* e *Q. multiflora* é suficiente para produção máxima de frutos em condições naturais (dados não publicados). Assim, mesmo na ausência de heterantria e grande

quantidade de pólen, o recurso fornecido, no caso é néctar, é suficiente para atrair os polinizadores e o pólen é suficiente para fecundar as flores das espécies de *Qualea*.

No presente estudo encontramos anteras e estigmas posicionados opostos um ao outro, mas observamos ausência de simetria perfeita na reciprocidade. Uma maior reciprocidade em espécies com deposição direta de pólen, como *Qualea*, poderia ser um diferencial na deposição específica de pólen em partes do corpo polinizador, já que a parte do corpo polinizador que toca a antera de um morfo floral, posteriormente toca o estigma de flores de outro morfo favorecendo o fluxo de pólen entre morfos (Barrett et al. 2000; Barrett 2002).

Entretanto, aparentemente essa diferença de reciprocidade encontrada nas flores de *Qualea* não afeta a eficácia da frutificação final (dados não publicados), pois embora a antera esteja quase sempre mais próxima do eixo floral, tornando a flor menos simétrica, as partes florais são flexíveis e podem afastar-se devido ao comportamento do polinizador, que se arrasta entre antera e estigma em busca do néctar armazenado no calcar, aumentando a distância entre as anteras e o estigma.

A flexibilidade das anteras e do estigma favorece que as abelhas com a distância intertegular um pouco maior que a distância das anteras-estigmas sejam mais eficazes em capturar o pólen em seu corpo e conseqüentemente levar ao estigma de flores de morfo oposto. Encontramos que o tamanho ideal de abelha em que havia maior deposição de pólen era exatamente em abelhas com a distância intertegular ligeiramente maior que a distância da antera-estigma, mas não muito maior, apenas até um tamanho ótimo.

Essa deposição de pólen maior em abelhas com distância intertegular maior (2.68 mm em *Q. parviflora* e 3.64 mm em *Q. multiflora*) que a largura antera-estigma fica evidente quando observamos os grupos de polinizadores que tiveram uma maior quantidade de pólen depositado no corpo. As abelhas dos grupos de corpos maiores, Grupo 1 (abelhas pretas grandes), Grupo 2 (*Xylocopa* spp.) e grupo 3 (*Centris aenea*) apresentaram mais pólen se comparadas às abelhas do grupo 4 (abelhas menores). E em todos os grupos o local de maior deposição de pólen foi na lateral do corpo. Tendo em vista que em ambas as espécies a deposição de pólen no corpo do polinizador é de modo direto, por meio do arraste da abelha entre as peças florais, esperava-se mesmo que a lateral concentrasse mais pólen no corpo das abelhas.

Entretanto não esperava-mos encontrar diferença de pólen entre o lado direito e esquerdo do corpo dos polinizadores. Em *Q. parviflora*, observamos maior número de

grãos de pólen no lado esquerdo do ventre e da cabeça, enquanto que na lateral encontramos mais pólen do lado direito. Já em *Q. multiflora*, no ventre e na lateral encontramos maior número de grãos de pólen no lado esquerdo, enquanto que na cabeça tem mais pólen do lado direito. Dessa forma observamos que a deposição de pólen foi diferente entre lados tanto em *Q. parviflora* que é assimétrica em ambos os lados, quanto em *Q. multiflora* que é assimétrica do lado direito, mas é simétrica do lado esquerdo.

Apesar dessa diferença na deposição de pólen entre os lados da abelha, não existe uma diferença de eficiência na transferência de pólen em nenhum dos morfos. Do contrário, se as abelhas apresentassem mais pólen de um lado, digamos que seja o lado direito, seria de se esperar que flores esquerdas recebessem mais pólen. Porém, a frutificação é igual entre morfos (dados não publicados), mesmo no tratamento de suplementação polínica, demonstrando que ambos os morfos recebem pólen suficiente. Além disso, esse registro de deposição diferencial de pólen no corpo do polinizador não foi refletido no experimento de transferência de pólen (representado pelo pó fluorescente) entre morfos florais. Apesar dos dados serem qualitativos, não observamos grande diferença de fluxo de pólen entre flores direitas e esquerdas (14D e 16E).

Nossos estudos anteriores (dados não publicados) demonstraram que mesmo recebendo pólen de morfo oposto ou de mesmo morfo, as plantas frutificam de maneira igual, desde que o pólen seja xenogâmico. Portanto mesmo as espécies de *Qualea* não sendo perfeitamente recíprocas a flexibilidade das peças florais, que permitem que estas se afastem um pouco quando o visitante floral força a passagem entre elas para acessar o néctar, faz com que ambos os lados do polinizador toquem as peças florais independente da reciprocidade perfeita.

Outro aspecto da funcionalidade da enantiostilia é a presença da hercogamia. A separação entre anteras e estigmas pode servir para reduzir a interferência na deposição e recebimento de autopólen/pólen geitonogâmico (Jesson & Barrett 2002c). De fato não observamos nenhum evento de fluxo de pólen entre flores de mesmo morfo. Em nosso experimento de fluxo de pólen flores direitas receberam apenas pólen de flores esquerdas e vice versa. Também não observamos fluxo de pólen, nem doando e nem recebendo, em flores com as peças florais unidas simulando a condição não enantiostílica. Além disso, a separação espacial das peças florais também reduz os possíveis danos que estas, podem sofrer durante a polinização (Jesson & Barrett 2002c).

A enantiostilia monomórfica também é proposta como um mecanismo que reduz a geitonogamia à metade, já que cerca da metade das flores são de morfo direito e a outra metade de morfo esquerdo (Barrett 2000; Almeida 2013; capítulo 2), evitando a transferência de pólen entre flores de mesmo morfo. Nas espécies de *Qualea* aqui estudadas ainda existe um sistema de incompatibilidade que limita a produção de frutos tanto por autopólen quanto por geitonogamia (Barbosa 1983; Santos 1997; capítulo 2). O sistema de incompatibilidade é especialmente importante em espécies arbóreas como em *Qualea* que apresentam um grande número de flores abertas por dia (cerca de 150 para *Q. parviflora* e 300 para *Q. multiflora* no total da estação reprodutiva, Barbosa 1983) e que tem muitas flores visitadas consecutivamente pelos polinizadores (capítulo 2).

Em espécies enantiostílicas que não possuem um sistema de incompatibilidade como em *Maranta leuconeura* (Azevedo 2014), *Solanum rostratum* e *S. citrullifolium* (Bohs et al. 2007; Sólis-Monteiro & Vallejo-Marín 2017), *Monokoria korsakowii* (Wang et al. 1998) e espécies da subtribo Cassiinae (Almeida et al. 2013a,b, 2015a,b), o fato de serem arbustos ou subarbustos e apresentarem relativamente poucas flores abertas por dia, possivelmente diminui a deposição de pólen por geitonogamia, quando comparado à espécies arbóreas com grande oferta de flores por indivíduo por dia, como nas espécies enantiostílicas de *Qualea*, *Callisthene* e *Salvertia* na família Vochysiaceae. Contudo essas espécies apresentam um sistema de incompatibilidade (Oliveira 1998) o que diminui a autofecundação (Barrett et al. 2000). Portanto, nessas espécies arbóreas o sistema de incompatibilidade é ainda mais importante para evitar a autofecundação e a consequente endogamia.

Com base em nossos resultados, nas espécies de *Qualea* aqui estudadas a enantiostilia é reforçada como uma estratégia para reduzir a chegada de autopólen/pólen geitonogâmico, reduzir os possíveis danos que podem ser causados por polinizadores durante a visitação (Graham & Barrett 1995) e com a ajuda do sistema de incompatibilidade, evitar a autofecundação e diminuir a endogamia (Barrett et al. 2000).

Literatura citada

- Almeida NM, Castro CC, Leite AVL, Novo RR, Machado IC. 2013a. Enantiostyly in *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae Caesalpinioideae): floral morphology, pollen transfer dynamics and breeding system. *Plant Biology*. 15(2): 369-375.
- Almeida NM, Castro CC, Leite AVL, Novo RR, Machado IC. 2013b. Floral polymorphism in *Chamaecrista flexuosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): a possible case of atypical enantiostyly? *Annals of Botany* 112: 1117–1123.
- Almeida NM, Bezerra TT, Oliveira CRS, Novo RR, Siqueira-Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2015a. Breeding systems of enantiostylous Cassiinae species (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Flora* 215: 9-15.
- Almeida NM, Cotarelli VM, Souza DP, Novo RR, Siqueira-Filho JA, Oliveira PE, Castro CC. 2015b. Enantiostylous types of Cassiinae species (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Plant Biology* 17: 740–745.
- Almeida NM. 2014. Enantiostilia e relações reprodutivas em espécies da subtribo Cassiinae (Fabaceae, Caesalpinioideae). Tese Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife/PE.
- Andena SR, Santos EF, Noll FB. 2012. Taxonomic diversity, niche width and similarity in the use of plant resources by bees (Hymenoptera: Anthophila) in a cerrado area. *Journal of Natural History*. 46(27-28): 1663-1687.
- Arceo-Gómez G, Martínez ML, Parra-Tabla V, García-Franco JG. 2010. Anther and stigma morphology in mirror-image flowers of *Chamaecrista chamaecristoides* (Fabaceae): implications for buzz pollination. *Plant Biology* 13 (Suppl. 1): 19–24.
- Arceo-Gómez G, Martínez ML, Parra-Tabla V, García-Franco JG. 2012. Floral and reproductive biology of the Mexican endemic *Chamaecrista chamaecristoides* (Fabaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society* 139(3): 260-269.
- Assunção VA, Casagrande JC, Sartori AALB. 2014. Floristics and reproductive phenology of trees and Bushes in Central West Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 86(2): 785-799.
- Aveiro SMG. 1997. Biologia da reprodução e crescimento inicial de *Qualea cordata* Spreng (Vochysiaceae), uma espécie arbórea do Cerrado. 156 f. Tese (Doutorado)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Azevedo IFP. 2014. Sistemas reprodutivos em espécies não-arbóreas de fragmento de Floresta atlântica do sudeste brasileiro: Diversidade, frequência e condições

- derivadas. Tese. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Vegetal, Viçosa/MG.
- Bahadur B, Chaturvedi A, Swamy NR. 1990. SEM studies of pollen in relation to enantiostyly and heterantery in *Cassia* (Caesalpinaceae). *Journal of Palynology* 91: 7-22.
- Barbosa AAA. 1983. Aspectos da Ecologia Reprodutiva de três espécies de *Qualea* (Vochysiaceae) num Cerrado de Brasília – DF. Dissertação Universidade de Brasília, Departamento de Botânica, Brasília/DF.
- Barrett SCH, Jesson LK, Baker AM. 2000. The Evolution and Function of Styler Polymorphisms in Flowering Plants. *Annals of Botany*. 85(Supplement A): 253-265.
- Barrett SCH. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics*. 3: 274–284.
- Barrett SCH. 2003. Mating strategies in flowering plants: the out crossing–selfing paradigm and beyond. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 358: 991–1004.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67(1): 1-48.
- Bohs L, Weese T, Myers N, Lefgren V, Thomas N, van Wagenen A, Stern S. 2007. Zygomorphy and Heteranthery in *Solanum* in a Phylogenetic Context. VIth International Solanaceae Conference. *Acta Horticulturae*. 745: 201-223.
- Borges MP. 2011. Diversidade florística e funcional em formações florestais ribeirinhas no triângulo Mineiro, MG, Brasil. Dissertação Universidade de Uberlândia, Departamento de Botânica, Uberlândia/MG. 77f.
- Carneiro MS. 2013. Efeito da estrutura da paisagem sobre a riqueza e Diversidade de árvores em grupos funcionais reprodutivos. Dissertação Universidade de Alfenas, Departamento de Ecologia e Tecnologia Ambiental, Alfenas/MG. 77f.
- Custódio LN, Carmo-Oliveira R, Mendes-Rodrigues C, Oliveira PE. 2014. Pre-dispersal seed predation and abortion in species of *Callisthene* and *Qualea* (Vochysiaceae) in a Neotropical savanna. *Acta Botanica Brasilica* 28(3): 309-320.
- Dulberger R, Orndulf R. 1980. Floral morphology and reproductive biology of four species of *Cyanella* (Tecophilaceae). *New Phytologist*. 86: 45-56.
- Dulmen, A. 2001. Pollination and phenology of flowers in the canopy of two contrasting rain Forest types in Amazonia, Colombia. *Plant Ecology*. 153:73–85.

- Fenster CB. 1995. Mirror-image flowers and their effect on outcrossing rate in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 82(1): 46-50.
- Graham SW, Barrett SCH. 1995. Phylogenetic Systematics of Pontederiales. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ. 1995. *Monocotyledons: Systematic and Evolution* 415-441. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002a. Enantiostyly in *Wachendorfia* (Haemodoraceae): The influence of reproductive systems on the Maintenance of the polymorphism. *American Journal of Botany* 89(2): 253–262.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002b. The genetics of mirror-image flowers. *Proceedings of the Royal Society B* 269: 1835–1839
- Jesson LK, Barrett SCH. 2002c. Solving the puzzle of mirror-image flowers. *Nature* 417-707.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Science* 164(5 Suppl.): 237–249.
- Jesson LK, Kang J, Wagner SL, Barrett SCH, Dengler NG. 2003. The Development of Enantiostyly. *American Journal of Botany* 90(2): 183–195.
- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. 2017. Lmer TestPackage: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software* 82(13): 1-26.
- Marazzi B, Conti E, Endress PK. 2007. Diversity in anthers and stigmas in the buzz-pollinated genus *Senna* (Leguminosae, Cassiinae). *International Journal of Plant Science* 168(4):371–391.
- Oliveira PE. 1998. Reproductive Biology, Evolution and taxonomy of the Vochysiaceae in the Central Brasil. In: Owens SJ, Rudall PJ. *Reproductive Biology* 381-393.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rodríguez L, Sanoja E. 2008. Fenología, biología floral de polinización de especies de la familia Vochysiaceae en la Guayana Venezolana. *Acta Botanica Venezuelana* 31: 331-366.
- Santos ML. 1997. Biología floral de duas espécies de Vochysiaceae em um Cerrado sobre afloramento basáltico em Araguari, MG. Dissertação Universidade de Brasília, Departamento de Botânica, Brasília/DF. 93f.

- Shimizu GH. 2016. Phylogenetic, taxonomic and nomenclatural studies in Vochysiaceae and synopsis of *Vochysia* in Brazil. Tese Universidade de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas/SP. 126f.
- Soares SMNA, Kaehler TG, Araujo RB, Falconer D, Silva DP, Monteiro VM. 2012. Biologia Floral, enantiostilia, sistema reprodutivo e potenciais polinizadores de *Callisthene minor* Mart. (Vochysiaceae), Chapada dos Veadeiros – Brazil. Biologia e Ecologia da polinização. Curso de campo 3: 89-97.
- Sólis-Monteiro L, Vallejo-Marín M. 2017. 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 7: 2706–2715.
- Vallejo-Marín M, Walker C, Friston-Reilly P, Solís-Montero L, Iqbal 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: 20130256.
- Venables WN, Ripley BD. 2002. Modern Applied Statistics with S. 4 ed. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0
- Wang G, Yamasue Y, Itoh K, Kusanagi T. 1998. Outcrossing rates as affected by pollinators and the heterozygote advantage of *Monochoria korsakowii*. Aquatic Botany 62: 135-143.
- Wickham H. 2016. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York.

Anexo 1 – Sumário dos resultados encontrados para os modelos de comparação na deposição de pólen nas diferentes partes do corpo dos insetos visitantes de populações de *Q. parviflora* e *Q. multiflora* separados por grupos de visitantes florais. Em negrito estão os resultados significativamente diferentes.

	<u>Estimate</u>	<u>Std. Error</u>	<u>Z</u>	<u>P</u>
<i>Q. parviflora</i>				
(Intercept)	4.246	0.381	11.140	<0.001
ladoE	-0.419	0.018	-23.674	<0.001
areaB	-1.138	0.023	-50.192	<0.001
areaC	-2.004	0.032	-61.832	<0.001
polinizador2	-1.24	0.733	-1.692	0.091
polinizador3	-0.867	0.444	-1.953	0.051
polinizador4	-1.484	0.439	-3.380	<0.001
ladoE:areaB	0.639	0.032	20.036	<0.001
ladoE:areaC	0.508	0.046	11.113	<0.001
<i>Q. multiflora</i>				
(Intercept)	4.326	0.234	18.451	<0.001
ladoE	0.135	0.016	8.215	<0.001
areaB	-1.076	0.024	-45.250	<0.001
areaC	-0.768	0.021	-36.062	<0.001
polinizador2	0.341	0.678	0.503	0.615
polinizador3	-0.348	1.034	-0.337	0.736
polinizador4	-2.434	0.445	-5.474	<0.001
ladoE:areaB	0.253	0.031	8.108	<0.001
ladoE:areaC	-0.428	0.031	-13.558	<0.001

Anexo 2 – Médias e desvio padrão da distância antera-eixo floral, distância estigma-eixo floral e distância antera-estigma em populações de *Q. parviflora* e *Q. multiflora*.

Distância	População	<i>Q. parviflora</i>		<i>Q. multiflora</i>	
		Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
Antera-Eixo floral	Pirenópolis/GO	1.737±1.197	2.018±1.673	2.672±1.459	2.549±1.893
	Cristalina/GO	1.764±1.234	1.244±1.080	1.645±1.999	2.574±1.676
	Catalão/GO	2.002±1.060	1.404±1.224	-	-
	FAL/DF	1.527±1.243	1.682±1.259	-	-
	IBGE/DF	-	-	3.490±2.346	3.081±1.804
Estigma-Eixo floral	Pirenópolis/GO	3.579±1.111	3.468±1.610	4.046±2.777	4.219±2.401
	Cristalina/GO	2.508±1.211	2.817±1.089	4.312±2.267	3.292±1.859
	Catalão/GO	3.103±1.308	3.453±1.039	-	-
	FAL/DF	3.699±1.429	3.163±1.001	-	-
	IBGE/DF	-	-	3.449±1.594	2.927±2.083
Antera-Estigma	Pirenópolis/GO	5.201±1.397	5.542±1.587	6.769±1.869	6.887±2.008
	Cristalina/GO	4.130±1.214	4.143±1.177	5.776±2.527	5.519±1.650
	Catalão/GO	5.130±1.359	4.979±1.322	-	-
	FAL/DF	5.386±1.112	5.063±1.367	-	-
	IBGE/DF	-	-	6.828±2.555	5.916±1.582

Anexo 3 – Médias e desvio padrão da deposição de pólen no corpo dos insetos visitantes de *Q. parviflora* e *Q. multiflora*, separados por grupos de visitantes florais.

Grupo polinizador	Posição	<i>Q. parviflora</i>			<i>Q. multiflora</i>		
		N	Grãos de pólen (média± SD)		N	Grãos de pólen (média± SD)	
			Direito	Esquerdo		Direito	Esquerdo
Grupo 1	Ventre	16	52.37±71.12	57.19±57.09	37	46.13±45.79	70.73±83.65
	Cabeça	16	18.75±32.25	15.81±30.59	37	74.24±121.17	52.24±98.97
	Lateral	16	163.5±299.83	72.44±85.4	37	153.81±255.11	148.92±271.74
Grupo2	Ventre	6	11.33±11.59	19.5±22.54	5	67.4±34.41	115.4±140.08
	Cabeça	6	34±79.38	39±88.69	5	33.6±37.57	33.4±24.6
	Lateral	6	13.5±16.63	26.67±34.68	5	111.6±132.37	73±18.08
Grupo 3	Ventre	45	21.76±45.7	28.16±57.34	2	12.5±2.12	34.5±3.53
	Cabeça	45	6.87±15.82	8.16±17.73	2	28±33.94	12±15.56
	Lateral	45	61.36±85.66	55.27±77.3	2	114±110.31	58.5±70
Grupo 4	Ventre	50	13.52±21.54	17.78±32.13	16	18.75±47.12	14.37±36.23
	Cabeça	50	5.28±11.42	6.44±25.72	16	15.75±31.69	17.56±41.31
	Lateral	50	50.7±126.82	28.92±35.97	16	29.56±69.25	122.44±311.67

Anexo 4 – Número de abelhas coletadas nas populações de *Q. parviflora* e *Q. multiflora* e a relação da distância intertegular dos insetos. Grupo se refere à forma que as abelhas foram agrupadas. Grupo 1: *Bombus brevivillus*, *B. morio*, *B. pauloensis*, *Centris scopipes*, *Epicharis dejeani*, *E. bicolor*, *E. Flava* e *E. analis*; Grupo 2: *Xylocopa* spp; Grupo 3: *Centris aenea*; Grupo 4: demais abelhas. Distância intertegular corresponde a variação da distância do menor e maior indivíduo coletado em cada espécie. Cat: Catalão/GO, Cris: Cristalina/GO, DB: Dom Bosco/DF, IBGE: IBGE/DF. Obs. Não incluímos as espécies de *Megachilenas* análises de deposição de pólen, pois essas abelhas tem como característica armazenar o pólen no ventre e a quantidade de pólen no ventre delas seria artificial e não fruto da deposição devido à morfologia floral.

Subfamília/Tribo/espécie	Grupo	Distância intertegular (mm)	<i>Q. parviflora</i>			<i>Q. multiflora</i>		
			Cat	Cris	DB	Pire	Cris	IBGE
APINAE								
Centridini								
<i>Centris (Centris) aenea</i> Lepeletier	3	5.09 - 6.82	20	4	21	2		
<i>Centris (Centris) segregata</i> Crawford	4	5.58 - 6.49	1	1				
<i>Centris (Centris) sp.</i> Fabricius	4	4.74 - 5.76		6				
<i>Centris (Hemisiella) tarsata</i> Smith	4	3.82 - 4.46	1	2				
<i>Centris (Melacentris) analis</i> Fabricius	4	3.58	1					
<i>Centris (Ptilotopus) scopipes</i> Friese	1	10.57 - 10.58		1				1
<i>Centris (Trachina) longimana</i> Fabricius	4	8.48 - 8.62		2				
<i>Centris (Xanthemisia) bicolor</i> Lepeletier	4	8.04	1					
<i>Epicharis (Anepicharis) dejeani</i> Friese	1	6.79 - 7.08	1					1
<i>Epicharis (Epicharis) bicolor</i> Smith	1	5.91 - 6.42	3			1		
<i>Epicharis (Epicharana) flava</i> Friese	1	6.73 - 8.08			5	2		
<i>Epicharis (Epicharitides) cockerelli</i> Friese	4	4.52 - 5.16	8					1
<i>Epicharis (Epicharitides) iheringii</i> Friese	4	4.66 - 4.95	3	1				
<i>Epicharis (Epicharoides) xanthogastra</i> Moure & Seabra	4	4.15 - 5.47	2	5				
<i>Epicharis (Triepicharis) analis</i> Lepeletier	1	6.85 - 8.26	2			9	1	4

Subfamília/Tribo/espécie	Grupo	Distância intertegular (mm)	<i>Q. parviflora</i>			<i>Q. multiflora</i>		
			Cat	Cris	DB	Pire	Cris	IBGE
Xylocopini								
<i>Xylocopa (Dasyxylocopa) sp.</i> Hurd & Moure	2	-			1			
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) grisescens</i> Lepeletier	2	11.21-12.29		1	1	1		
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) hirsutissima</i> Maidl	2	9.61 - 10.88		1		1	1	
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) suspecta</i> Moure & Camargo	2	10.46 - 10.82				2		
<i>Xylocopa (Schonnherria) subcyanea</i> Pérez	2	5.82 - 6.71		3				
Ericrocidini								
<i>Mesoplia sp.1</i> Lepeletier	4	4.69 - 5.21		4				
<i>Mesoplia sp.2</i> Lepeletier	4	6.61		1				
<i>Ctenioschelus goryi</i> Romand	4	6.4						1
<i>Eurytis funereus</i> Smith	4	6.12				1		
Bombini								
<i>Bombus (Fervidobombus) brevivillus</i> Franklin	1	5.06 - 8.76		2		1	6	
<i>Bombus (Fervidobombus) morio</i> Swederus	1	7.14 - 9.84				2	1	1
<i>Bombus (Fervidobombus) pauloensis</i> Friese	1	4.4 - 6.63		2	1		3	1
Meliponini								
<i>Geotrigona mombuca</i> Smith	4	2.01		1				
<i>Trigona spinipes</i> Fabricius	4	2.55		1				
Apini								
<i>Apis mellifera</i> Linnaeus	4	3.05 - 3.7	2	1		4	3	3

Subfamília/Tribo/espécie	Grupo	Distância intertegular (mm)	<i>Q. parviflora</i>			<i>Q. multiflora</i>			
			Cat	Cris	DB	Pire	Cris	IBGE	
Euglossini									
<i>Euglossa</i> sp. Latreille	4	4.6		1					
Exomalopsini									
<i>Exomalopsis fulvofasciata</i> Smith	4	3.49 - 3.79						2	
ANDRENINAE									
Oxaeini									
<i>Oxaea flavescens</i> Klug	4	5.91 - 5.96		2					
COLLETINAE									
Diphaglossini									
<i>Ptiloglossa</i> sp. Smith	4	5.82						1	
HALICTINAE									
Augochlorini									
<i>Augochloropsis</i> sp. Cockerell	4	3.09		1					
MEGACHILINAE									
Megachilini									
<i>Megachile (Pseudocentron)</i> cf. <i>Rubricata</i> Smith	4	4.25		1					
<i>Megachile (Pseudocentron)</i> sp. Mitchell	4	3.88 - 5.03		5	1			1	
<i>Epanthidium aureocinctum</i> Urban	4	4		1					
TOTAL				45	50	30	26	16	16

CONCLUSÃO

Nossos estudos acerca da enantioestilia ajudaram a atualizar as informações sobre sua ocorrência entre as Angiospermas, reforçando uma prevalência da enantioestilia monomórfica sobre a dimórfica bem como a restrição de enantioestilia dimórfica a espécies de ordens dentro do grupo das monocotiledôneas. Nossos estudos sugerem que a enantioestilia dimórfica realmente surgiu posteriormente à enantioestilia monomórfica.

Pudemos descrever a biologia floral e reprodutiva de duas espécies arbóreas abundantes no Cerrado brasileiro, que são enantioestílicas monomórficas através de uma abordagem focada em possíveis diferenças entre morfos. Concluimos que no geral não há diferenças entre aspectos reprodutivos entre morfos. Somente a viabilidade polínica em *Q. multiflora* foi um pouco maior em um dos morfos – morfo esquerdo – o que parece não influenciar taxas de frutificação no morfo oposto em condições naturais e nem mesmo no mesmo morfo, ainda que em condições manipuladas. Confirmamos que ambas as espécies de *Qualea* aqui estudadas são autoincompatíveis e que o serviço realizado pelos polinizadores é suficiente para uma produção máxima de frutos, ainda que a chegada de pólen por geitonogamia provoque um certo entupimento nos estigmas das flores dessas espécies, fato esse demonstrado por experimentos de polinização cruzada com flores ensacadas, e portanto, livres da ação de polinizadores.

Observamos ainda a ação da reciprocidade na transferência de pólen entre morfos florais e percebemos que as flores recebem pólen apenas de flores de morfo oposto e que existe um tamanho ideal de polinizadores que confere uma atuação ótima no serviço de polinização, especialmente em espécies enantioestílicas cuja deposição de pólen no corpo do polinizador é feita de forma direta.

Concluimos, portanto, que apesar de ser clara a função da enantioestilia dimórfica, a enantioestilia monomórfica também auxilia no fluxo de pólen entre morfos. O fato da enantioestilia apresentar frequentemente uma proporção igual de flores entre morfos, inclusive no presente estudo, diminui à metade as chances de geitonogamia, sendo eficiente em evitar autofecundação e endogamia. Além disso, ao menos no presente estudo a enantioestilia demonstrou que não ocorre autopolinização, dentro da mesma flor, já que a hercogamia limita o contato entre antera e estigma dentro da flor. Outro ponto à favor da enantioestilia, mesmo monomórfica é que o deslocamento das peças reprodutivas para fora do centro da flor, diminui os danos provocados pelas manipulações das flores durante a visitação floral. Portanto a enantioestilia mesmo

monomórfica se mostra eficiente na reprodução das espécies de plantas se comparada a uma condição sem enantiostilia.