

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/02/2020.

COMO DUAS ESPÉCIES DE *CHAMAECRISTA* LIDAM COM O DILEMA DO PÓLEN? DIFERENÇA NO TAMANHO FLORAL E NA ESTRATÉGIA REPRODUTIVA MEDIADA PELAS ABELHAS

TAMIRIS DAIANE DELGADO DE LIMA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas
Botânica, Área de concentração
Ecologia Vegetal.

Botucatu – SP

2019

Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu Seção Técnica de Pós-Graduação Rua Professor Doutor
Antonio Celso Wagner Zanin, s/nº, Botucatu, SP – CEP 18618-689 Telefone (14) 3880-0780
posgraduacao@ibb.unesp.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

COMO DUAS ESPÉCIES DE *CHAMAECRISTA* LIDAM COM O
DILEMA DO PÓLEN? DIFERENÇA NO TAMANHO FLORAL E
NA ESTRATÉGIA REPRODUTIVA MEDIADA PELAS ABELHAS

TAMIRIS DAIANE DELGADO DE LIMA
DR. ANSELMO NOGUEIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas
Botânica, Área de concentração
Ecologia Vegetal.

Botucatu – SP

2019

Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu Seção Técnica de Pós-Graduação Rua Professor Doutor
Antonio Celso Wagner Zanin, s/nº, Botucatu, SP – CEP 18618-689 Telefone (14) 3880-0780
posgraduacao@ibb.unesp.br

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Lima, Tamiris Daiane Delgado de.

Como duas espécies de *Chamaecrista* lidam com o dilema do pólen? Diferença no tamanho floral e na estratégia reprodutiva mediada pelas abelhas / Tamiris Daiane Delgado de Lima. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Anselmo Nogueira
Capes: 20306008

1. Divisão do trabalho. 2. Abelha - Pólen. 3. Polinização. 4. Antera. 5. Morfologia (Biologia).

Palavras-chave: Heteranteria; Dilema do pólen; Divisão de trabalho; Hercogamia; Tamanho floral.

Agradecimentos

A CAPES pela bolsa concedida.

A Deus, que foi minha maior força nos momentos difíceis. Sem ele, nada disso seria possível. Obrigada, senhor, a confiança e amor que tenho em ti me fortalece todos os dias.

Ao meu orientador Anselmo Nogueira pelo apoio, confiança e pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho.

Aos meus pais Dilma Lima e Waldir Lima, obrigada pelo amor incondicional e pelo exemplo de vida, pelo apoio, por confiar em mim, por não medirem esforços para que eu realize o meu sonho e por sempre ter palavras de incentivo.

As minhas irmãs Patty Lima e a Alecsandra Ferreira, que me ajudaram inúmeras vezes e cuidaram de mim.

Aos anjos em forma humana Patrick, Koba, Paty Joaquim, Maira, Lucas, Carol e a todos os anjos que fazem parte da Coexiste e estão aqui para nos lembrar o quantos somos amando por Deus, e pelos inúmeros abraços. Em especial meu agradecimento Kaw Yin Yan Yin por estarem disposto a ensinar o amor e o cuidado com outro e a nós mesmo, com tanto amor e dedicação.

Aos meus amigos de laboratório, Isabele, Milena, Felipe, Gabriel, Luana e a Natália em especial ao Guilherme meu companheiro de campo, que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

A os todos integrantes do programa, professores e funcionários pelo apoio em diversos instantes.

Obrigada!

Sumário

Resumo	2
Abstract	3
1. Introdução.....	4
2. Material e Método	7
2.1. Espécies focais e áreas de estudo	7
2.2. Morfologia floral de <i>C. desvauxii</i> var. <i>latistipula</i> e <i>C. nictitans</i>	8
2.3. Contagem dos grãos de pólen e dos óvulos das flores de <i>C. desvauxii</i> var. <i>latistipula</i> e <i>C. nictitans</i>	9
2.4. Padrão de visitação de espécies de abelhas em flores de <i>C. desvauxii</i> var. <i>latistipula</i> e <i>C. nictitans</i>	10
2.5. Teste da hipótese de divisão de trabalho entre morfos de estames nas duas espécies de <i>Chamaecrista</i>	10
2.6. Avaliando o papel da autopolinização mediada pelas abelhas em flores de <i>C. desvauxii</i> var. <i>latistipula</i> e <i>C. nictitans</i>	11
2.7. Teste de autocompatibilidade em flores de <i>C. desvauxii</i> var. <i>latistipula</i> e <i>C. nictitans</i>	12
2.8. Análises de dados	13
3. Resultado	14
3.1. Como a diferença no tamanho floral modifica a morfologia das flores, o grau de hercogamia e heteranteria nas duas espécies de <i>Chamaecrista</i> ?	14
3.2. A diferença no tamanho das flores está correlacionada com mudanças na produção relativa de grãos de pólen e óvulos?	17
3.3. As diferenças no tamanho floral e disponibilidade de recursos geram mudanças na assembleia de polinizadores e antagonistas?	18
3.4. Existe divisão de trabalho entre os morfos das anteras nas flores pequenas de <i>C. nictitans</i> e flores maiores de <i>C. desvauxii</i> var. <i>latistipula</i> ?	21
3.5. Flores pequenas de <i>C. nictitans</i> favorecem uma maior taxa de autopolinização em relação as flores maiores de <i>C. desvauxii</i> var. <i>latistipula</i> ?	22
4. Discussão	24
5. Conclusão e Perspectivas Futuras.....	28

6. Referências Bibliográficas.....	29
Figuras	35

LIMA, T. D. D. AS COMO DUAS ESPÉCIES DE *CHAMAECRISTA* LIDAM COM O DILEMA DO PÓLEN? DIFERENÇA NO TAMANHO FLORAL E ESTRATÉGIA REPRODUTIVA MEDIADA PELAS ABELHAS, 2019. 35p. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, BOTUCATU.

Resumo: A variação no tamanho floral entre espécies vegetais interfere diretamente no grau de heteranteria e grau hercogamia dentro da flor, e pode favorecer a divisão de trabalho entre as anteras, diminuindo o conflito por pólen entre planta e polinizador. Neste trabalho, nosso objetivo principal é investigar como o tamanho floral modifica o processo de polinização e estratégia reprodutiva em duas espécies com tamanhos florais contrastantes: *Chamaecrista desvauxii* var. *latistipula* e *Chamaecrista nictitans*. Nossa hipótese é de que a morfologia das flores maiores de *C. desvauxii* var. *latistipula* com androceu evidentemente heteromórfico favoreça a divisão de trabalho, e a segurança reprodutiva nessas flores ocorra via anteras de polinização; enquanto que a morfologia das flores menores de *Chamaecrista nictitans* não favorece a divisão de trabalho entre as anteras e que a segurança reprodutiva e o conflito por pólen sejam superados pelo predomínio da autopolinização. Nossos resultados indicam que não ocorre divisão de trabalho entre os conjuntos das anteras em ambas as espécies, embora a heteranteria seja visível em *C. desvauxii*. Independente do tamanho das flores os diferentes conjuntos de anteras não diferem em atração visual para as abelhas. Já em flores menores de *C. nictitans* nossos resultados indicam a quebra da heteranteria e da hercogamia em um sistema mais generalista quando comparado a flores maiores de *C. desvauxii* var. *latistipula*. As flores pequenas de *C. nictitans* dependem do auto pólen para alcançar o sucesso reprodutivo, o mesmo não ocorre com as flores grandes de *C. desvauxii*. A preponderância da autopolinização mediada pelas abelhas ou por autopolinização espontânea é evidente nas flores menores, diferente das flores de *C. desvauxii* muito mais dependente da visita das abelhas.

Palavras chaves: Divisão de trabalho, heteranteria, hercogamia, autopolinização, dilema do pólen, tamanho floral, polinização por vibração.

LIMA, T. D. D. AS TWO SPECIES OF *CHAMAECRISTA* DEAL WITH THE DILEMMA OF THE POLLEN? DIFFERENCE IN FLORAL SIZE AND REPRODUCTIVE STRATEGY MEDIATED BY BEES, 2019. 35p. MASTER THESIS (MASTER) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, BOTUCATU.

Abstract: The variation in floral size between plant species directly interferes with the degree of heteranthery and degree of hercogamy within the flower and may favor the division of labor between the anthers, reducing the conflict between plant pollen and pollinator. In this work, our primary objective is to investigate how the floral size modifies the pollination process and reproductive strategy in two species with contrasting floral sizes: *Chamaecrista desvauxii* var. *latistipula* and *Chamaecrista nictitans*. We hypothesize that the morphology of the larger flowers of *C. desvauxii* with evident anther dimorphism favors the division of labor, and reproductive security in these flowers occurs via pollination anthers. Alternatively, the morphology of the smaller flowers of *C. nictitans* does not favor the division of labor between the anthers and that reproductive security and pollen conflict are overcome by the predominance of self-pollination. Our results indicate that there is no division of labor between the anther sets in both species, although heteranthery is visible in *C. desvauxii*. Regardless of the size of the flowers, the different anther sets do not differ in visual attraction for the bees. In smaller flowers of *C. nictitans*, our results indicate the breakage of heteranthery and hercogamy into a more general system when compared to larger flowers of *C. desvauxii*. The small flowers of *C. nictitans* depend on auto pollen to achieve reproductive success, the same does not occur with the large flowers of *C. desvauxii*. The preponderance of self-pollination by bees or spontaneous self-pollination is evident in the smaller flowers, different from the flowers of *C. desvauxii*, which is much more dependent on the visit of the bees.

Keywords: Division of labor, heteranthery, hercogamy, self-pollination, pollen dilemma, floral size, vibration pollination.

1. Introdução

A maior parte das plantas com flores depende dos animais para que ocorra a polinização. A interação planta-polinizador envolve muitas espécies de polinizadores por espécie vegetal e vice-versa (Waser et al., 1996; Morgan 2006). A relação entre flor e visitante é mediada por recursos florais, que atraem os animais, e acaba favorecendo a transferência do pólen (Varassin & Amaral-Neto, 2014). Os recursos florais tendem a saciar as necessidades fisiológicas do polinizador como a alimentação, reprodução e na construção de ninhos, e consequentemente o polinizador presta serviço transferência do gameta masculino (Agostini et al. 2014). A forma com que os recursos estão alocados na flor interfere diretamente no comportamento do animal durante a visita e determina o acesso ao recurso (Solís-Montero & Vallejo-Marín, 2017). Desta maneira, a morfologia floral, pode limitar no acesso ao recurso floral, garantindo que o visitante realize várias visitas e obtenha o mínimo de recurso, aumentando o número de visitas e chances de ocorrer a fertilização dos óvulos. Em contraponto, o visitante tenta coletar o máximo de recurso em uma única visita, otimizando o forrageio com o mínimo de esforços (Agostini et al. 2014).

Entre os grupos de polinizadores, as abelhas, são um grupo diverso e numeroso, e dependem dos recursos florais para sua sobrevivência (Michener, 2007). A dependência das abelhas por recurso florais e a das plantas pelo serviço de polinização, propiciou a evolução de adaptações da morfologia e do comportamento das abelhas para acesso dos recursos florais, e adaptações nas peças florais e do próprio recurso para atração dos visitantes (Pinheiro *et al*, 2014). A polinização por vibração é um exemplo de adaptação do comportamento da abelha para coleta do pólen, e da morfologia floral para a proteção dos grãos de pólen (Buchmann, 1983; De Luca & Vallejo-Marín, 2013). Cerca de 6 a 8% das espécies vegetais são polinizadas pela vibração das abelhas, que são caracterizadas por terem anteras poricidas, ausência ou baixa quantidade de néctar, sendo o pólen a principal recompensa oferecida às abelhas (Buchmann, 1983, Vallejo-Marin et al., 2010). Para que as abelhas coletem o pólen, elas precisam agarrar uma ou mais anteras e transmitir as contrações musculares do tórax, o que faz com que os grãos de pólen dentro das anteras sejam liberados pelo poro para o corpo da abelha, em regiões como abdome e tórax (Michener, 1962; Buchmann, 1983; Hrncir et al., 2008). A liberação do pólen acaba, por sua vez, sendo dependente do grupo de abelhas que consegue realizar a vibração das anteras (Vallejo-Marín, 2018). As flores que ofertam pólen como o único recurso foram chamadas de flores de pólen (Vogel 1978), e acabam enfrentando um conflito maior quando comparadas que as plantas que ofertam pólen e néctar. Pois neste caso o pólen é o recurso que atrai as abelhas, e abriga o gameta masculino, responsável pela reprodução (Vallejo-Marín et

al. 2009; De Luca & Vallejo-Marín 2013). Se o pólen é excessivamente consumido pelas abelhas, o número de gametas masculinos disponíveis para a fertilização dos óvulos torna-se limitado, gerando um conflito para a planta, que é conhecido como “dilema do pólen” (Luo et al. 2009; Lunau et al. 2014).

Acredita-se que este conflito tenha levado à evolução de mecanismos para restringir a coleta de pólen (Lunau, et al. 2015). Uma possível estratégia é a produção de dois ou mais morfos diferentes de estames (heteranteria), que diferem quanto à forma, posição, tamanho e/ou cor. Os estames diferentes poderiam reduzir o conflito por pólen por permitir funções distintas para cada conjunto de estames (Luo et al. 2008; Vallejo-Marín et al. 2009). Müller (1883) propôs a hipótese de divisão de trabalho, no qual estames diferentes desempenham funções diferentes durante a visita das abelhas. O conjunto de estames com anteras menores e centrais na flor, com cores mais vibrantes, seriam “anteras de alimentação”, atraindo e disponibilizando pólen aos visitantes florais. O segundo conjunto, com anteras maiores deslocadas do centro da flor, muitas vezes com uma coloração opaca, diferente das demais seriam as “anteras de polinização” menos exploradas pelas abelhas, e direcionariam a deposição de pólen em sítios estratégicos no corpo dos polinizadores, favorecendo a reprodução sexuada dessas espécies vegetais (Müller, 1883; Agostini et al., 2014; Vallejo-Marín et al., 2014). Desta forma, haveria uma segurança reprodutiva para as plantas, já que o pólen não seria completamente explorado pelas abelhas como recurso alimentar para as larvas (Westerkamp 1996).

A variação no tamanho floral entre espécies vegetais interfere diretamente no grau de heteranteria e grau de separação espacial antera-estigma (hercogamia), e pode favorecer a divisão de trabalho entre as anteras dentro da flor, diminuindo o conflito por pólen entre planta e polinizador (Jesson & Barret 2003; Luo et al. 2008; Vallejo-Marín et al. 2014). Flores de pólen maiores têm maior espaço interno o que facilita divisão de trabalho entre anteras, podendo existir alto grau de heteranteria e hercogamia. Existem diversos exemplos da separação entre os conjuntos de anteras em diferentes linhagens de plantas, especialmente em Solanaceae, Melastomataceae e Fabaceae, no qual anteras menores estão mais ao centro da flor, enquanto que as anteras maiores estão mais marginais (Vallejo-Marín et al. 2014, Solís-Montero & Vallejo-Marín, 2017; Müller 1883). Assim, o polinizador chega para coletar o pólen das anteras de alimentação e ao vibrar o conjunto de anteras, as anteras de polinização depositam pólen em sítios seguros no corpo do polinizados (Solís-Montero & Vallejo-Marín, 2017; Müller 1883). Já em flores pequenas, o espaço dentro da flor é reduzido, o que dificultaria a divisão de trabalho entre o conjunto de estames, devido a redução ou a quebra da heteranteria (Vallejo-Marín et al. 2014). Neste caso, as anteras estão mais próximas entre si e da região estigmática, e a

segurança reprodutiva pode ser garantida pela preponderância da autofertilização dentro da própria flor (Vallejo-Marín et al. 2014).

Em um estudo realizado com espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae) que possuem flores de pólen de diferentes tamanhos, os autores relacionam a diminuição do tamanho floral com a redução ou a quebra da separação espacial entre os órgãos reprodutivos antera-estigma, e também a diminuição da diferença entre anteras (heteranteria), da alocação de recursos e da relação pólen/óvulo (Vallejo-Marín et al. 2014). Flores maiores alcançariam o sucesso na polinização devido a existência de divisão de trabalho entre os morfos das anteras, o que diminuiria o conflito com as abelhas explorando os grãos de pólen como recurso. De maneira distinta, a redução do tamanho floral levaria a um aumento na taxa de autofertilização frente a fertilização cruzada pela diminuição da separação espacial antera-estigma (Vallejo-Marín et al. 2014). Embora os autores tenham criado expectativas claras sobre o funcionamento das flores com diferentes tamanhos e morfologias, e as estratégias alternativas das flores de pólen para lidar com o dilema do pólen, não existem evidências empíricas diretas contrastando o funcionamento das flores de pólen com diferentes tamanhos e seus visitantes florais. Neste trabalho, nosso objetivo principal é investigar como o tamanho floral modifica o processo de polinização e estratégia reprodutiva em duas espécies do gênero *Chamaecrista* Moench (Fabaceae) polinizadas por vibração. Para tanto, selecionamos duas espécies proximamente relacionadas com tamanhos florais contrastantes: *Chamaecrista desvauxii* var. *latistipula* (Benth.) G.P.Lewis e *Chamaecrista nictitans* (L.) Moench. Nossa hipótese é de que a morfologia das flores maiores de *C. desvauxii* com androceu evidentemente heteromórfico favoreça a divisão de trabalho, e que a segurança reprodutiva nessas flores ocorra via anteras de polinização; enquanto que a morfologia das flores menores de *Chamaecrista nictitans* não favoreça a divisão de trabalho entre as anteras e que a segurança reprodutiva e o dilema do pólen sejam superados pelo predomínio da autopolinização. Dessa forma, nós procuramos responder as seguintes perguntas específicas: (i) Como a diferença no tamanho floral modifica a morfologia das flores, o grau de hercogamia e heteranteria nas duas espécies de *Chamaecrista*? (ii) A diferença no tamanho das flores está correlacionada com mudanças na produção relativa de grãos de pólen e óvulos? (iii) As diferenças no tamanho floral e disponibilidade de recursos geram mudanças na assembleia de polinizadores e antagonistas? (iv) Existe divisão de trabalho entre os morfos das anteras nas flores pequenas de *C. nictitans* e flores maiores de *C. desvauxii* var. *latistipula*? (v) Flores pequenas de *C. nictitans* favorecem a autopolinização em relação as flores maiores de *C. desvauxii* var. *latistipula*?

6. Referências Bibliográficas

- Agostini, A.; Lopes A.V. & Machado, I.C.; 2014. Polinização por abelhas. In: Rech, A.R.; Agostini, K.; Machado, I.C.S. & Oliveira, P.E.A.M. (orgs.). Biologia da polinização. Projeto Cultural, Rio de Janeiro. Pp. 206-233
- Almeida, N. M.; castro, C. C.; Leite, A. V.; Novo, R. R. & Machado, I. C. 2013a. Enantiostyly in *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): floral morphology, pollen transfer dynamics and breeding system. *Plant Biology* 15: 369-375.
- Almeida, N. M.; Castro, C. C.; Leite, A. V.; Novo, R. R. & Machado, I. C. 2013b. Floral polymorphism in *Chamaecrista flexuosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): a possible case of atypical enantiostyly? *Annals of Botany* 112 (6): 1117-1123.
- Almeida, N.M. 2014. Enantiostilia e relações reprodutivas em espécies da subtribo Cassiinae (Fabaceae - Caesalpinioideae) Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Recife, 2014.
- Alves-Dos-Santos, I., Silva CI, Pinheiro M, Kleiner AMP. 2016. Quando um visitante floral é um polinizador? *Rodriguésia*, doi: 10.1590/2175-7860201667202.
- Amorim, T. , Marazzi, B., Soares, A. A., Forni-Martins, E. R., Muniz, C. R. , Westerkamp, C. 2017. Ricochet pollination in *Senna* (Fabaceae) – petals deflect pollen jets and promote division of labour among flower structures. *H. Rennenberg* Received: doi:10.1111/plb.12607
- Barrett SCH. 1992. Evolution and function of heterostyly. Berlin, Germany: Springer
- Barrett SCH. 2002 Sexual interference of the floral kind. *Heredity* 88, 154 –159. (doi:10.1038/sj.hdy.6800020)
- Bates D., Maechler, M., Bolker, B, Walker, S. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01.
- Baumgratz, J.F.A.; Silva, N.M.F. 1986/88. Ecologia da polinização e biologia da reprodução de *Miconia stenostachya* DC. (Melastomataceae). *Rodriguésia* 38/40(64/66): 11-23.
- Bolker. B, Skaug, H and Laake, J. 2017. R2admb: 'ADMB' to R Interface Functions. R package version 0.7.16. <https://CRAN.R-project.org/package=R2admb>
- Buchmann, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In *Handbook of experimental pollination* (C.E. Jones & R.J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold New Your p. 73-113.
- Conceição, A. D. S.; Queiroz, L. P.; Lewis, G. 2001, Novas espécies de *Chamaecrista* Moench (leguminosae-caesalpinioideae) da chapada diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus. Série Ciências Biológicas*, Feira de Santana, v. 1, n. 2, p. 112-119, 2001.

- Costa, C.B.N.; Lambert, S.M.; Borba, E.L. & De Queiroz, L.P. 2007. Postzygotic reproductive isolation between sympatric taxa in the *Chamaecrista desvauxii* complex (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Annals of Botany* 99: 625–635.
- Cruden, R.W. 1977 Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, 4, 32– 46
- Dantas M.M., Silva, M.J. 2013. O gênero *Chamaecrista* (Leguminosae, Caesalpinioideae, Cassieae) no Parque Estadual da Serra Dourada, Goiás, Brasil. *Rodriguésia* 64(3): 581-595. 2013
- Darwin C. 1862. The various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized by insects. London: Murray.'
- De Luca PA, Vallejo-Marín M. 2013 What's the 'buzz' about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16, 429 –435. (doi:10.1016/j.pbi.2013.05.002)
- Dulberger, R. 1981. The floral biology of *Cassia didymobotrya* and *C. auriculata* (Caesalpinaceae). *American Journal of Botany* 68:1350-1360.
- Endress, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge.
- Fournier DA, Skaug HJ, Ancheta J, Iannelli J, Magnusson A, Maunder M, Nielsen A and Sibert J .2012. "AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models." *_Optim. Methods Softw._*, *27*, pp. 233-249.
- Fox, J. & Weisberg, S. 2011. An {R} Companion to Applied Regression, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage. URL: <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>
- Friedman J, Barrett SCH. 2011 The evolution of ovule number and flower size in wind-pollinated plants. *Am. Nat.* 177, 246 –257. (doi:10.1086/657954)
- Hothorn T., Bretz, F and Westfall, P. 2008. Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal* 50(3), 346--363.
- Hrncir M, Gravel AI, Schorkopf DLP, Schmidt VM, Zucchi R, Barth FG. 2008. Thoracic vibrations in stingless bees (*Melipona seminigra*): resonances of the thorax influence vibrations associated with flight but not those associated with sound production. *Journal of Experimental Biology* 211(5): 678-685.
- Jesson LK, Barrett SCH. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Sciences* 164: S237–S249.

- Laporta, C. 2005. Floral biology and reproductive system of enantiostylous *Senna corymbosa* (Caesalpinaceae). *Revista de Biologia Tropical* 53 (1-2): 49-6
- Lewis, G. P. et al. Legumes of the world. Kew: Royal Botanic Gardens, 2005
- Liu, H & Koptur, S. 2003. Breeding system and pollination of a narrowly endemic herb of the Lower Florida Keys: impacts of the urban–wildland interface. *American Journal of Botany* 90: 1180–1187.
- Lunau, K.; Piorek, V.; Krohn, O.; Pacini, E. 2014. Just spines—mechanical defense of malvaceous pollen against collection by corbiculate bees. *Apidologie* 46: 144—149.
- Luo Z, Zhang D, Renner SS. 2008. Why two kinds of stamens in buzzpollinated flowers? Experimental support for Darwin’s division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology* 22: 794–800.
- Luo ZL, Gu L, Zhang DX. 2009. Intrafloral differentiation of stamens in heterantherous flowers. *Journal of Systematics and Evolution* 47: 43– 56
- Luo, Z.; Zhang, D.; Renner, S.S. 2008. Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin’s division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology* 22: 794-800.
- Michener, C. D. 1962. Na interesting method of pollen collecting by bees from flowers with tubular anthers. *Review Biology Tropical*, 10,167-175
- Michener, C.D. 2007. *The Bees of the World*, 2nd edn. John Hopkins University Press, Baltimore.
- Morgan, M.T. 2006. Selection on reproductive characters: conceptual foundations and their extension to pollinator interactions In: Harder L.D., Barrett S.C.H. eds. *Ecology and evolution of flowers*
- Müller F. 1883 Two kinds of stamens with diferente functions in the same flower. *Nature* 27, 364 – 365. (doi:10.1038/027364b0)
- Nogueira, A., Valadão-Mendes L.B., El-Ottra JHL., Guimarães E, Cardoso-Gustavon P, Quinalha MM, Paulino JV, Rando JG. 2018. Relationship of floral morphology and development with the pattern of bee visitation in a species with pollen-flowers, *Chamaecrista desvauxii* (Fabaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 1: 1-20.
- Oliveira, P.E., Maruyama P.K. 2014. *Sistemas reprodutivos*. In: Rech AR, Agostini K, Oliveira PE, Machado IC. eds. *Biologia da polinização* Editora: Projeto Cultural, pp.73-92. P.K. 2014. *Sistemas reprodutivos*. In: Rech AR, Agostini K, Oliveira PE, Machado IC. eds. *Biologia da polinização* Editora: Projeto Cultural, pp.73-92.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D and R Core Team. 2017. *_nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models_*. R package version 3.1-131, <URL:https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.

- Pinheiro, M.; Gaglianone, M.C.; Nunes, C.E.P.; Sigrist, M.R. & Alves-dos-Santos, I 2014. Polinização por abelhas. In: Rech, A.R.; Agostini, K.; Machado, I.C.S. & Oliveira, P.E.A.M. (orgs.). *Biologia da polinização*. Projeto Cultural, Rio de Janeiro. Pp. 206-233
- Pires, J.P.A. & Freitas, L. 2008. Reproductive biology of two tree species of Leguminosae in a Montane Rain Forest in Southeastern Brazil. *Flora* 203: 491-498. pollination biology (eds CE Jones, RJ Little), pp. 73 –113. New York, NY: Scientific and Academic
- Queiroz, R.T & Loiola, M.I.B. 2009.O gênero *Chamaecrista* Moench (Caesalpinioideae) em áreas do entorno do Parque Estadual das Dunas de Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. *Hoehnea* 36: 725-736.
- R Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Renner, S.S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76:496-518.
- Rstudio. RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio Inc., Boston, MA. <<http://www.rstudio.com>>, 2018.
- Santos, A.K.A.; Martins, A. B.; Romero, R.; Santos, A. P. M.; Almeda, F Bemado, K. F. R.; Koschnitzke, C.; Goldenberg, R.; Reginato, M.; Lee, R. C. S.; William Antonio Rodrigues, W. A. 2009. Melastomataceae. In: Giulietti, A.M. Giulietti, A.M.; Rapini, A.; Andrade, M. J. 8 G.; Queiroz, L. P.; Silva, J. M. C. (eds.) *Plantas raras do Brasil*. Belo Horizonte, MG. Conservação Internacional, Universidade Estadual de Feira de Santana. Pp. 263-279.
- Seavey, S.R. & Bawa, K.S. 1986. Late-acting selfincompatibility in Angiosperms. *Botanical Review* 52: 195-219.
- Solís-Montero L, Vallejo-Marín M. 2017. Does the morphological fit between flowers and pollinators affect pollen deposition? An experimental test in a buzzpollinated species with anther dimorphism. *Ecol Evol.* 2017;7:2706–2715. <https://doi.org/10.1002/ece3.2897>
- Souza, V.C.; Bortoluzzi, R.L.C. 2015 *Chamaecrista* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22876>>.em 20/01/2019
- Souza, V.C.; Bortoluzzi, R.L.C. 2015 *Chamaecrista* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22876>>.em 20/01/2019
- Urutia, E. & Hokche, O. 2008. Aspectos de la biología reproductiva de dos especies de *Chamaecrista* Moench (Caesalpinioideae – Leguminosae). *Acta bot. Venez.* 31 (2): 461-472.

- Vallejo-Marín M, Solís-Montero L, Souto Vilaros D, Lee MYQ. 2013 Mating system in Mexican populations of the annual herb *Solanum rostratum* Dunal (Solanaceae). *Plant Biol.* 15, 948–954. (doi:10.1111/j.1438-8677.2012.00715.x)
- Vallejo-Marin, M. 2018 In press. Buzz pollination: Studying bee vibrations on flowers. *New Phytologist*. Tansley Insight. doi: 10.1111/nph.15666 Supplementary information: Buzz Pollination Glossary; Shiny App for vibrations
- 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. *Phil. Trans. R. Soc. B* 369: 20130256. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0256>
- Vallejo-Marín, M., Da Silva, E. M., Sargent, R. D., & Barrett, S. C. H. (2010). Trait correlates and functional significance of heteranthy in flowering plants. *New Phytologist*, 188, 418–425.
- Vallejo-Marín, M., Manson J.S., Thomson, J.D., Barrett S.C.H. 2009. Division of labour within flowers: heteranthy, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *Journal of Evolutionary Biology* 22: 828–839.
- Varassin, I.G.; Amaral-Neto, L.P. 2014. Atrativos. In: Rech, A. R.; Agostini, K.; Oliveira, P. E.; Machado, I. C. (eds.) *Biologia da Polinização*. Rio de Janeiro: Projeto Cultural. Pp. 151—168.
- Venables, W. N. & Ripley, B. D. 2002 *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0
- Vogel S. 1978 Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In *The pollination of flowers by insects* (ed. A.J. Richards). London, UK: Academic Press.
- Waser, N, Chittka L, Price M, Williams N, and Ollerton J (1996). Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, 77, 1043–60
- Westerkamp C (1996) Pollen in bee-flower relations: some considerations on melittophily. *Bot Acta* 109:325–332
- Westerkamp, C. 2004. Ricochet pollination in *Cassias* – and how bees explain enantiostyly. In: Magalhães FB, Pereira J.O, eds. *Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination*. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará.
- Whalen MD. 1978 Reproductive character displacement and floral diversity in *Solanum* section *Androceras*. *Syst. Bot.* 3, 77–86. (doi:10.2307/2418533)
- Wood, S.N. 2017 *Generalized Additive Models: An Introduction with R* (2nd edition). Chapman and Hall/CRC.

Zapata, T.R. & Arroyo, K.M.T. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.