



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



BIOLOGIA REPRODUTIVA EM LENTIBULARIACEAE RICH.

FERNANDA GOMES RODRIGUES

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção de título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração: Sistemática e Ecologia Vegetal.

**BOTUCATU - SP
2022**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

BIOLOGIA REPRODUTIVA EM LENTIBULARIACEAE RICH.

FERNANDA GOMES RODRIGUES

ORIENTADOR

DR VITOR FERNANDES OLIVEIRA DE MIRANDA

CO-ORIENTADORA:

DR^a ELZA MARIA GUIMARÃES SANTOS

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção de título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração: Sistemática e Ecologia Vegetal.

**BOTUCATU - SP
2022**



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Rodrigues, Fernanda Gomes.

Biologia reprodutiva em Lentibulariaceae Rich. /
Fernanda Gomes Rodrigues. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Vitor Fernandes Oliveira de Miranda

Coorientador: Elza Maria Guimarães Santos

Capes: 10601066

1. Plantas carnívoras - Reprodução. 2. Polinizadores.
3. Autofertilização. 4. Tecnologias reprodutivas.

Palavras-chave: Acoplamento flor-polinizador;
Autofecundação tardia; Hercogamia; Plantas carnívoras;
Polinizadores.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Cristiane e Riberto e meu irmão Lucas, por me apoiarem em todos os meus objetivos pessoais e profissionais, por sua dedicação e seu amor incondicional.

Ao meu companheiro Fernando, por me apoiar, incentivar e vibrar com cada conquista minha desde sempre.

Aos familiares e amigos, que permaneceram, acompanharam e apoiaram este processo.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Ciências Biológicas (Botânica), pelo engrandecimento acadêmico e profissional permitidos.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor e orientador Dr. Vitor F. O. Miranda e à coorientadora Dra. Elza Guimarães pelos grandes ensinamentos, pela paciência e suporte para a construção da profissional que sempre almejei me tornar.

Aos colegas do Laboratório de Sistemática Vegetal (UNESP/FCAV), pelo suporte e contribuição em todas as etapas do meu trabalho, e pela amizade dentro e fora da universidade. Em especial ao Hugo Dolsan, pela paciência e ensinamentos em campo.

A Dra. Priscila Tunes do Programa de Ciências Biológicas (Botânica), pelos ensinamentos e contribuição em várias etapas do meu trabalho.

Aos professores Maria Célia Portella e Fernando José Zara do Programa de Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pela disponibilidade em ceder prontamente seu laboratório.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a minha caminhada acadêmica e a realização do meu sonho, o meu

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO	
AGRADECIMENTOS	4
BIOLOGIA REPRODUTIVA EM LENTIBULARIACEAE RICH.	13
REPRODUCTIVE BIOLOGY IN LENTIBULARIACEAE RICH.	14
INTRODUÇÃO GERAL	1
1. A família Lentibulariaceae Rich.	1
1.1. Biologia reprodutiva em Lentibulariaceae.....	3
1.1.1. Biologia da polinização em Lentibulariaceae	5
1.2. <i>Utricularia damazioi</i> Beauverd	5
REFERÊNCIAS	8
CAPÍTULO 1: Biologia reprodutiva em Lentibulariaceae Rich.: revisão sistemática e evolução	12
RESUMO	12
INTRODUÇÃO	14
MATERIAL E MÉTODOS	17
Busca e triagem dos estudos	17
Extração, sumarização e análise de dados	18
Associação entre aspectos florais e polinizadores	18
Evolução de características florais	19
RESULTADOS	20
Literatura incluída	20
Visitantes e polinizadores	20
Pinguicula.....	21
Genlisea.....	22
<i>Utricularia</i>	22
Sistema reprodutivo	23
<i>Pinguicula</i>	24
<i>Genlisea</i>	25
<i>Utricularia</i>	26

Atrativos florais	28
<i>Pinguicula</i>	28
<i>Genlisea</i>	28
<i>Utricularia</i>	29
Tricomas	29
<i>Pinguicula</i>	29
<i>Genlisea</i>	30
<i>Utricularia</i>	30
Recursos	31
<i>Pinguicula</i>	31
<i>Utricularia</i>	32
Características florais e polinizadores	33
Evolução de características florais e flor plesiomórfica de Lentibulariaceae	33
DISCUSSÃO	35
Polinizadores	35
Adaptações do sistema reprodutivo	37
Atrativos florais	39
Diversidade de tricomas florais	40
Recursos	42
PRINCIPAIS PADRÕES ENCONTRADOS	44
Lacunas metodológicas	44
Direções futuras	46
<i>Polinizadores</i>	46
<i>Sistema reprodutivo</i>	47
<i>Atrativos, tricomas e recursos florais</i>	47
REFERÊNCIAS	48
TABELAS	57
Tabela 1. Visitantes florais em Lentibulariaceae (Categoria A). Metodologias aplicadas e visitantes registrados.....	57

Tabela 2. Sistema reprodutivo em Lentibulariaceae (Categoria B). Dados levantados pelos estudos, sistema reprodutivo e dependência de polinizadores.....	59
Tabela 3. Atrativos florais em Lentibulariaceae (Categoria C). Dados levantados pelos estudos.	63
Tabela 4. Diversidade de tricomas florais levantados pelos estudos em Lentibulariaceae (Categoria D).	64
Tabela 5. Análises de néctar em Lentibulariaceae (Categoria E). Dados levantados pelos estudos e razão S/(F + G) (Baker & Baker 1990).....	66
FIGURAS	67
Figura 1. Diagrama de fluxo PRISMA 2020 para o número de estudos encontrados, triados e incluídos na revisão, por meio de banco de dados e outras fontes (baseado em Page et al., 2020).	67
Figura 2. Literatura incluída. (A) Número de estudos classificados por tipo de literatura, branca (branco) e cinzenta (cinza); (B) Porcentagem de estudos que abrangeram os principais resultados; (C) Resultados por gênero: porcentagem de estudos (gráfico à esquerda), de espécies (gráfico à direita) e número de estudos por período (gráfico abaixo).	68
Figura 3. Visitantes florais registrados em (A) <i>Pinguicula</i> , (B) <i>Genlisea</i> e (C) <i>Utricularia</i> . Porcentagens das ordens taxonômicas dos visitantes, características analisadas dos visitantes e localizações das espécies de Lentibulariaceae observadas.	70
Figura 4. Visitantes florais (esquerda) e polinizadores (direita) por tipos florais. (A) Tipos de corola; (B) Cor das pétalas e (C) Reflectância da corola (apenas visitantes florais). Imagens: <i>U. reniformis</i> , <i>G. violaceae</i> e <i>P. moranensis</i> (Laboratório de Sistemática Vegetal – FCAV/UNESP); <i>U. vulgaris</i> (Plachnno et al. 2018b) e <i>U. bremii</i> (Plachnno et al. 2017a); <i>P. caerulea</i> Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Blue_Flower_Butterwort_(Pinguicula_caerulea)_ (38311735434).jpg	72
Figura 5. Distribuição de formatos de corola em filogenia de Lentibulariaceae. Imagens: <i>U. reniformis</i> , <i>G. violaceae</i> e <i>P. moranensis</i> (Laboratório de Sistemática Vegetal – FCAV/UNESP); <i>U. vulgaris</i> (Plachnno et al. 2018b) e <i>U. bremii</i> (Plachnno et al. 2017a); <i>P. caerulea</i> Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Blue_Flower_Butterwort_(Pinguicula_caerulea)_ (38311735434).jpg	74
INFORMAÇÃO SUPLEMENTAR	75

Apêndice S1. Termos para buscas booleanas usadas contra os bancos de dados <i>Web of Science</i> e <i>Scopus</i>	75
Apêndice S2. Informações extraídas dos estudos.	75
Apêndice S3. Estudos incluídos na revisão sistemática.	76
Tabela S1. Descrição das categorias criadas para as informações extraídas.	82
Tabela S2. Número de registros de visitantes em espécies de <i>Pinguicula</i> , <i>Genlisea</i> e <i>Utricularia</i> classificados por ordem e família taxonômica em ordem decrescente do número de registros. NI = não identificado.	84
Tabela S3. Visitantes legítimos, polinizadores e visitantes ilegítimos registrados em <i>Lentibulariaceae</i>	86
Tabela S4. Distribuição global de registros de visitantes florais. Número de estudos por grupos de pesquisa e publicações de estudos que registraram visitantes florais em <i>Lentibulariaceae</i>	89
Figura S1. Distribuição de características florais em filogenia de <i>Lentibulariaceae</i> . (A) Sistema reprodutivo, (B) dicogamia.	91
Figura S2. Distribuição de características florais em filogenia de <i>Lentibulariaceae</i> . (A) Presença de hercomamia, (B) tipo de hercogamia.	92
Figura S3. Distribuição de características florais em filogenia de <i>Lentibulariaceae</i> . (A) cor da corola, (B) reflectância UV.	93
Figura S4. Distribuição de características florais em filogenia de <i>Lentibulariaceae</i> . (A) Presença de odor, (B) composição do néctar.	94
Tabela S5. Número de espécies de <i>Lentibulariaceae</i> em cada categoria de tipo floral com cada legítimo visitante floral ou polinizador. Tu = Tubular, Tp = Tubular com palato piloso conspícuo, Hi = hipocrateriforme, Pc = palato fechado, Po = palato aberto, In = invaginação do palato.	95
Tabela S6. Número de espécies de <i>Lentibulariaceae</i> em cada cor de corola com cada legítimo visitante floral ou polinizador. Wh = branco a creme, Ye = amarelo, Re = vermelho, Pu = roxo a azulado.	96
Tabela S7. Número de espécies de <i>Lentibulariaceae</i> na categoria UV de cada visitante floral legítimo. Não há resultados suficientes para polinizadores. UV- = absorção de UV, BE = <i>bullseye</i> . Os dados de refletância UV estão disponíveis apenas para grupos de visitantes legítimos.	97

CAPÍTULO 2: Sexual reproduction of the carnivorous plant <i>Utricularia damazioi</i> Beauverd (Lentibulariaceae).....	98
ABSTRACT	99
INTRODUCTION	100
MATERIALS AND METHODS	103
Location of populations and study species	103
Floral biology	104
Breeding system	105
Floral visitors	105
Morphometric analyzes	107
UV color and pattern	108
RESULTS	109
Floral biology	109
Reproductive system	109
Floral visitors	110
Floral morphometry	113
Flower-pollinator coupling	113
UV color and pattern	114
DISCUSSION	115
Reproductive flexibility of <i>Utricularia damazioi</i>	115
Effective pollinators	116
Floral attractions	118
How does <i>U. damazioi</i> maintains itself in <i>campos rupestres</i> ?	121
Final considerations	123
ACKNOWLEDGEMENTS	123
REFERENCES	124
TABLES	131
Table 1. Percentage of fruit set in different pollination treatments in <i>Utricularia damazioi</i> (Lentibulariaceae).	131

Table 2. Legitimate visitors, number of shifts performed, flowers visited per shift, flowers visited in total, relative frequency and time spent on each visit to flowers of *U. damazioi* (Lentibulariaceae). 132

FIGURES 133

Figure 1. *Utricularia damazioi*. (A) Habitat with inflorescences, in detail the petiolate leaves in a rosette; (B) Functionally female fuchsia-colored flower on the left and functionally hermaphrodite lilac-colored flower on the right, (UL) upper lip, (P) palate, (LL) lower lip, (Sp) spur, arrow points to corolla ridges (bar ~12 mm scale); (C) Details of reproductive organs: (St) lower lip of stigma and (An) open anthers displaying pollen. 133

Figure 2. *Utricularia* flowers with indication of the distance between the reproductive organs and the inner wall of the lower lip: stigma (yellow) and anthers (red). On the left, illustration of *U. vulgaris* (illustration by H. Dolsan, inspired by Baillon 1892) and on the right, a fresh cut of *U. damazioi*. 134

Figure 3. Flower visitors of *Utricularia damazioi*. (A) *Augochlora* sp., arrow indicates nototribic pollen deposition; (B) *Augochloropsis* sp. two; (C) *Augochloropsis* sp. 3, with arrow indicates nototribic pollen deposition, in detail bee inserting thorax in calcar in search of resource; (D) *Apis mellifera*; (E) *Centris* sp.; (F) *Megachile* sp. and (G) *Hesperiidae* sp. inserting the proboscis into the flower. 135

Figure 4. Proportion of *Utricularia damazioi* pollen grains, extracted from different parts of the visitors' body, below the amount or mean and standard deviation (when more than one individual). (A) Andrenidae sp. (n = 2), (B) *Augochloropsis* sp. 3, (C) *Apis mellifera* (n = 3), (D) *Centris* (n = 2), (E) Curculionidae and (F) *Hesperiidae* sp. (n = 2). 136

Figure 5. Morphometry of *Utricularia damazioi* and legitimate floral visitors. The figures show the comparison between: (A) the lengths of the calcar of the corolla and tongue (* = proboscis) of visitors; (B) Perimeter of the base (opening) of the calcar and circumference of the head of the visitors and (C) Perimeter of the base (opening) of the calcar and dorsiventral circumference of the thorax of the visitors. Flowers in female phase in fuchsia and hermaphrodite in lilac. Visitors: small bees (1) Andrenidae (n = 2) and (2) *Augochloropsis* sp. 1; medium bees (3) *Augochloropsis* sp. 3 and (4) *Apis mellifera* (n = 3); large bees (5) *Centris* sp. and (6) *Centris tarsata*, (7) Curculionidae and (8) *Hesperiidae* (n = 2). 137

Figure 6. Morphometrics of *Utricularia damazioi* and legitimate visitors with their respective pollen load (represented by the average, when there was more than one individual). Distance from the lower lip to reproductive organs (y axis). Measurements of flowers in the

female functional phase in fuchsia and measurements of flowers in the hermaphrodite functional phase in purple. (A) Number of pollen grains recorded on the head (* = proboscis) of floral visitors. (B) Number of pollen grains recorded on the thorax of floral visitors. Visitors: small bees (1) Andrenidae (n = 2) and (2) *Augochloropsis* sp. 1; medium bees (3) *Augochloropsis* sp. 3 and (4) *Apis mellifera* (n = 3); large bees (5) *Centris* sp. and (6) *Centris tarsata*; (7) Curculionidae and (8) Hesperidae sp. (n = 2)..... 138

Figure 7. Color of the corolla and floral guides of *Utricularia damazioi*. Mean reflectance curves and standard deviation of fuchsia flowers (A) corolla, (D) guides; Mean reflectance curves and standard deviation of lilac flowers (B) corolla, (E) guides; Color hexagon representing the color loci of fuchsia (red dots) and lilac (blue dots) flowers against a background of standard green leaves (AV400) based on sensitivity of photoreceptors of *Bombus terrestris*, (C) corolla, (F) guides. 139

SUPPORTING INFORMATION 140

Appendix S1. Known populations of *Utricularia damazioi*, sources: Laboratory of Vegetal Systematics (LSV/ FCAV) – UNESP, Jaboticabal (SP), and, Baleeiro *et al.* (2016; 2019). Populations studied (yellow dots): (A) Location of the population studied within the limits of PARNA Serra do Cipó (MG) and (B) respective habitat; (C) Location of the studied population within the limits of PARNA Serra da Canastra and (D) respective habitat..... 140

Appendix S2. Observation sites sampled in the populations of *Utricularia damazioi* studied, their area, density, number of hours and days observed and flowers visited..... 141

Appendix S3. Flowers and floral structures of *Utricularia damazioi*. (A) flower bud, (B) bud in the pre-anthesis phase, (C) and (D) extension of the calcar, (E) open flower, (F) functionally female flower, the star indicates lower lip of the stigma and arrow the anthers, (G) immature fruit in early development after corolla fall and (H) immature fruit..... 142

Appendix S4. Frequency of visits per hour per plant of flower visitors observed in population 1. Trend lines (solid lines) depict a visual relationship between the number of visits per hour and the time of day based on smoothing weighted local regression (LOESS). The dashed lines represent the upper limits of the 95% confidence interval. We omitted the line representing the lower bounds of the 95% confidence interval because they were zero.... 143

Appendix S5. Frequency of visits per hour per plant of flower visitors observed in population 2. Trend lines (solid lines) depict a visual relationship between the number of visits per hour and the time of day based on smoothing weighted local regression (LOESS). The dashed

lines represent the upper limits of the 95% confidence interval. We omitted the line representing the lower bounds of the 95% confidence interval because they were zero.... 144

Appendix S6. Morphometric variables of flowers of *Utricularia damazioi* (Lentibulariaceae) in female and hermaphrodite phases. Length and width (A) of the corolla, (B) total length and perimeter of the enlarged base of calcar, length and width of (C) upper lip, (D) lower lip, (E) palate, (F) ridges, (G) distance between the lateral and medial portions of the stigma and anthers and (H) distance from the lower lip and reproductive structures. 145

Appendix S7. Chromatic (dS) and achromatic (dL) contrasts (mean \pm sd) between the analyzed data sets in Just Noticeable Differences (JND). 146

Appendix S8. UV photograph of the corolla of *Utricularia damazioi* (Lentibulariaceae) highlighting the absence of UV patterns on the corolla..... 147

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO AO PERIÓDICO 148

CONSIDERAÇÕES FINAIS 149

ANEXO – Normas para publicação no periódico Plant Biology. 150

BIOLOGIA REPRODUTIVA EM LENTIBULARIACEAE RICH.

RESUMO – Lentibulariaceae é uma família de plantas carnívoras diversa por apresentar alto número de espécies com ampla distribuição e diferentes padrões morfológicos. Além disso, são encontradas peculiaridades morfológicas (adaptação a diferentes ambientes) e genômicas (redução de genomas) de forma que algumas espécies têm sido propostas como organismos-modelos. No entanto, trabalhos em biologia reprodutiva e ecologia da polinização são escassos, os quais podem ser importantes para maior entendimento e subsídios para a preservação das espécies na família. Buscamos entender qual o estado da arte em biologia reprodutiva de Lentibulariaceae, por meio de uma revisão sistemática abrangente e análise crítica. Além de apontar características florais que possam interferir no sistema reprodutivo, mostramos como atributos florais e o sistema reprodutivo evoluíram na família por meio de uma filogenia existente para o grupo. Por fim, apontamos lacunas metodológicas e expomos direções futuras a trabalhos de biologia reprodutiva na família. Também avaliamos empiricamente, quais características florais são importantes para o sucesso reprodutivo de *Utricularia damazioi* e de que forma esta espécie anual se mantém em ambientes isolados (campos rupestres, Cerrado). Consideramos o espaço entre o lábio inferior da corola e os órgãos reprodutivos importantes ao encaixe planta-polinizador e consequente sucesso da polinização. Além desta característica, a reflectância floral parece ser promissora na predição de polinizadores. Devido ao seu tamanho e comportamento, abelhas de tamanho médio (~ 10 mm de comprimento) são polinizadores eficazes de *Utricularia damazioi*. Nesta espécie, quando a polinização cruzada não ocorre, a autopolinização espontânea tardia pode ocorrer. Assim, *U. damazioi* conta com a produção de sementes por autofecundação na ausência de vetores de polinização e a diversidade genética aumenta em sua presença, mantendo características florais atraentes. Essa flexibilidade representa uma maior possibilidade de manter populações isoladas. Devido à especificidade dos microambientes onde ocorrem espécies de Lentibulariaceae, perturbações antrópicas e ambientais, como aridez sazonal, são capazes de destruir populações, assim como diminuir a ocorrência de polinizadores adequados. Desta forma, as adaptações do sistema reprodutivo que promovem a autogamia, são derivadas na família e podem ter evoluído como respostas a perturbações ambientais e além de ser uma estratégia reprodutiva que mantém a ocorrência de populações anuais nestes microambientes.

Palavras-chave: acoplamento flor-polinizador, autofecundação tardia, hercogamia, plantas carnívoras, polinizadores, reflectância floral, revisão sistemática.

REPRODUCTIVE BIOLOGY IN LENTIBULARIACEAE RICH.

ABSTRACT – Lentibulariaceae is a family of carnivorous plants that is diverse because it has a high number of species with a wide distribution and different morphological patterns. Furthermore, morphological (adaptation to different environments) and genomic (reduction of genomes) peculiarities are found, so some species have been proposed as model organisms. However, studies on reproductive biology and pollination ecology are scarce, which may be important for greater understanding and subsidies for the preservation of species in the family. Through a comprehensive systematic review and critical analysis, we seek to understand the state of the art in Lentibulariaceae reproductive biology. In addition to pointing out floral characteristics that may interfere with the reproductive system, we show how floral attributes and the reproductive system evolved in the family through an existing phylogeny for the group. Finally, we point out methodological gaps and expose future directions for work on reproductive biology in the family. We also empirically evaluated which floral characteristics are important for the reproductive success of *Utricularia damazioi* and how this annual species maintains itself in isolated environments (*campos rupestres*, Cerrado). We consider the space between the lower lip of the corolla and the reproductive organs to be important for the plant-pollinator fit and consequent pollination success. In addition to this feature, floral reflectance seems to be promising in predicting pollinators. Due to their size and behavior, medium-sized bees (~10mm length) are effective pollinators of *Utricularia damazioi*. When cross-pollination does not occur in this species, late spontaneous self-pollination can occur. Thus, *U. damazioi* relies on seed production by self-fertilization in the absence of pollination vectors, and genetic diversity increases in their presence, maintaining attractive floral characteristics. This flexibility represents a greater possibility of keeping isolated populations. Due to the specificity of the microenvironments where Lentibulariaceae species occur, anthropic and environmental disturbances, such as seasonal aridity, can destroy populations and reduce the occurrence of suitable pollinators. In this way, the adaptations of the reproductive system that promote autogamy, are derived in the family and may have evolved as responses to environmental disturbances in addition to being a reproductive strategy that maintains the occurrence of annual populations in these microenvironments.

Keywords: carnivorous plants, delayed selfing, floral reflectance, flower-pollinator coupling, herkogamy, pollinators, systematic review.

INTRODUÇÃO GERAL

1. A família *Lentibulariaceae* Rich.

Lentibulariaceae (Lamiales) é uma família de plantas carnívoras herbáceas, anuais ou perenes que crescem em solos oligotróficos, úmidos e com alta luminosidade (FLEISCHMANN; ROCCIA, 2018; JUNIPER *et al.*, 1989; MCPHERSON, 2010). Quando comparada às demais famílias de plantas carnívoras, *Lentibulariaceae* é considerada altamente diversa por apresentar um grande número de espécies com ampla distribuição e diferentes mecanismos para a captura de presas (FLEISCHMANN; ROCCIA, 2018).

Aproximadamente 350 espécies que compõe a família estão classificadas entre os gêneros *Pinguicula* L., *Genlisea* A.St.-Hil. e *Utricularia* L. (FISCHER *et al.*, 2004; FLEISCHMANN; ROCCIA, 2018). *Pinguicula* é grupo irmão do clado *Genlisea–Utricularia*, constituindo um grupo monofilético (JOBSON; ALBERT, 2002; MÜLLER, K.; BORSCH, 2005; MÜLLER *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2018) (Figura 1).

O gênero *Pinguicula* compreende aproximadamente 100 espécies distribuídas em todos os continentes (exceto na Oceania e Antártida) e é o único que possui raízes (FLEISCHMANN; ROCCIA, 2018). Diferentemente dos outros gêneros na família, que apresentam armadilhas subterrâneas, *Pinguicula* possui como armadilha folhas em forma de roseta, que secretam mucilagem adesiva e enzimas digestivas (Figura 1a) (CASPER, 1966; HESLOP-HARRISON, 2004).

Genlisea compreende 31 espécies, que estão distribuídas pelas regiões tropical e subtropical da América Central e América do Sul, África Subsaariana e Madagascar (FLEISCHMANN, 2018). As armadilhas de *Genlisea* são folhas subterrâneas modificadas, denominadas rizofilos, por serem semelhantes a raízes e folhas simultaneamente (FLEISCHMANN, 2018; REUT, 1993). Os rizofilos são aclorofilados, espiralados e bifurcados, nos quais as presas entram através de aberturas e devido à presença de “pelos de

retenção” ficam aprisionadas e são digeridas (Figura 1b) (CARMESIN *et al.*, 2021; FLEISCHMANN, 2012, 2018).

Utricularia se destaca dentre os demais gêneros por ser cosmopolita (ausente nos polos e ilhas oceânicas), colonizar diversos habitats (aquático, terrestre, epífito, reofítico, litófito) e possuir o maior número de espécies. De cerca de 250 espécies, 71 são registradas no Brasil, das quais são 22 endêmicas de vários domínios fitogeográficos (FLORA DO BRASIL, 2020; TAYLOR, 1989). Este gênero apresenta as armadilhas de maior complexidade funcional, plasticidade fenotípica e velocidade de captura em plantas carnívoras: os utrículos. Tais armadilhas são vesículas subterrâneas de origem foliar, providas de um mecanismo de sucção acionado quando tricomas são tocados por pequenos organismos (Figura 1c) (DARWIN; DARWIN, 1888; GUISANDE, 2007; POPPINGA *et al.*, 2016, 2017; REIFENRATH *et al.*, 2006; TAYLOR, 1989).

Assim como *Genlisea*, *Utricularia* apresenta ausência de raízes e presença de armadilhas subterrâneas, geralmente, folhas pecioladas em roseta e morfologia floral semelhante de flores personadas com palato que oculta as estruturas reprodutivas (Figura 1b, 1c), características que evidenciam a estreita relação entre os gêneros (LLOYD, 1942). Além da morfologia das armadilhas, uma forma de diferenciá-los é observando o número de sépalas: cinco em *Genlisea* (tal como em *Pinguicula*) e quatro (*Utricularia* subg. *Polypompholyx*) ou duas (*U.* subg. *Utricularia*) em *Utricularia* (LLOYD, 1942; TAYLOR, 1989).

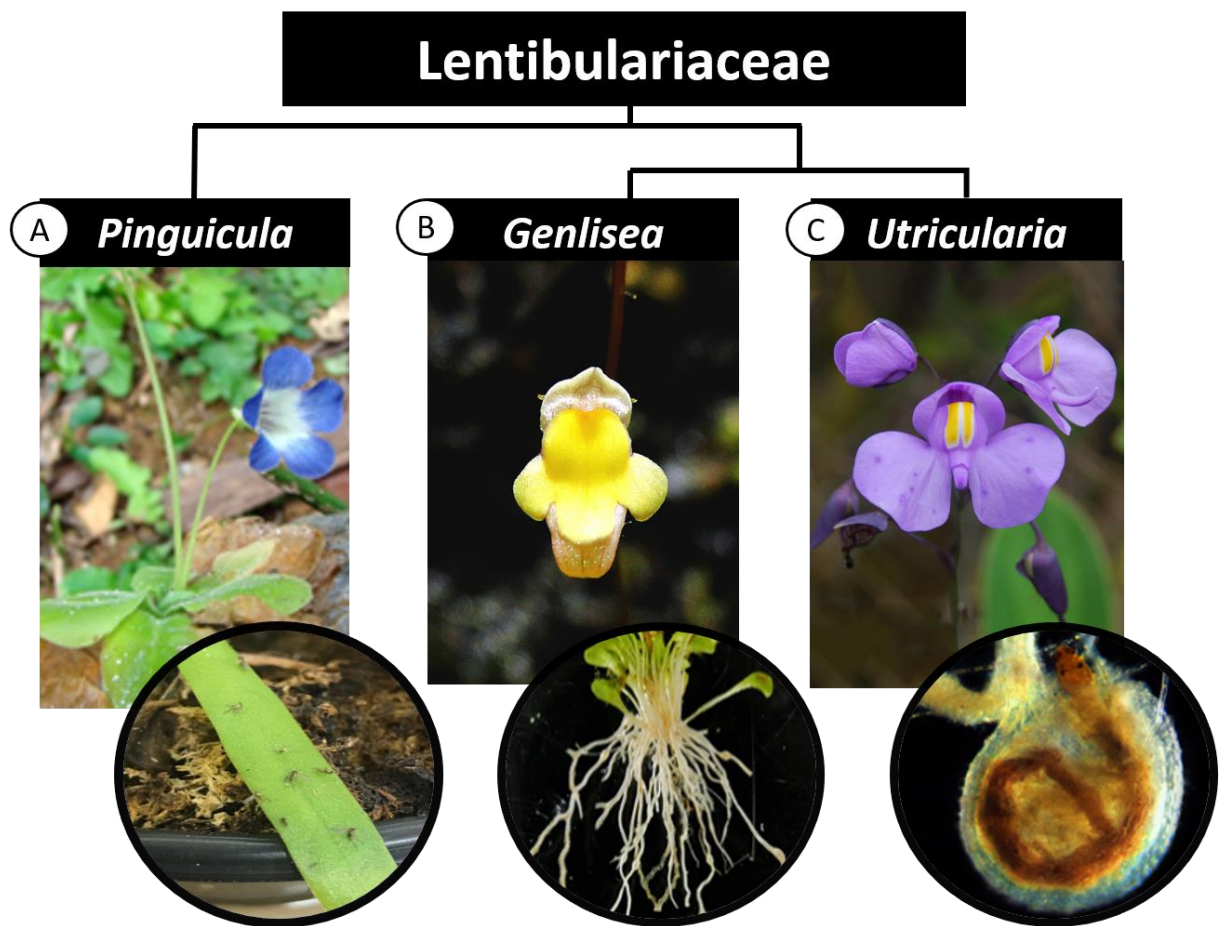


Figura 1 – A família Lentibulariaceae, em detalhe as armadilhas. (A) *Pinguicula*, em detalhe insetos presos à mucilagem das folhas, (B) *Genlisea aurea*, em detalhe folhas fotossintetizantes e armadilhas subterrâneas espiraladas (rizofilos) e (C) *Utricularia reniformis*, em detalhe utrículo com presa. Fontes: (A) Cristina Mercedes Panfet Valdés. Demais fotos, Laboratório de Sistemática Vegetal, Universidade Estadual Paulista (Unesp), câmpus de Jaboticabal – SP.

1.1. Biologia reprodutiva em Lentibulariaceae

As espécies de Lentibulariaceae podem apresentar estruturas especializadas que possibilitam a reprodução assexuada por propagação vegetativa. Em *Pinguicula* é comum a reprodução por folhas e gemas, porém também ocorre a presença de hibernáculos: estruturas de

dormência, formadas por um agrupamento de folhas suculentas não carnívoras. Os hibernáculos possibilitam que espécies sobrevivam a períodos de inverno ou estiagem e devido à presença de gemas, geram novas plantas clones quando o ambiente se torna favorável (HESLOP-HARRISON, 2004; LEGENDRE, 2000; MCPHERSON, 2010).

Em *Genlisea* a dispersão por reprodução vegetativa é dificultada, devido a raridade da presença de estolões e gemas axilares. Algumas espécies podem apresentar tubérculos capazes de armazenar água, que garantem a resistência em períodos de estiagem (PŁACHNO *et al.*, 2020).

Utricularia pode apresentar reprodução vegetativa por meio de destaque de folhas ou estolões. Além disso, espécies aquáticas podem conter órgãos de dormência denominados turions, que armazenam amido, capazes de gerar novos indivíduos (ADAMEC, 1999; 2018; 2020; DARWIN, 1875; PŁACHNO *et al.*, 2020). Neste gênero também é relatada a presença de tubérculos que armazenam água ou carboidratos, conferindo resistência em condições adversas (TAYLOR, 1989; PŁACHNO *et al.*, 2020).

Quanto à reprodução sexuada de Lentibulariaceae, a maioria das espécies estudadas até o momento são autocompatíveis (*e.g.* MOLAU, 1993; ARANGUREN *et al.*, 2018; JÉRÉMIE, 1989) de forma a apoiar a hipótese de que a autogamia seria o sistema de reprodução predominante na família (HOBBHAHN; KÜCHMEISTER; POREMBSKI, 2006). Poucas espécies autocompatíveis não realizam autopolinização espontânea e são consideradas alógamas (*e.g.* ZAMORA, 1999; FLEISCHMANN, 2011; CLIVATI *et al.*, 2014). A autogamia é relatada majoritariamente em *Utricularia*, gênero mais derivado (JÉRÉMIE, 1989). A propagação das sementes ocorre principalmente pela dispersão anemocórica e hidrocórica de cápsulas e sementes (MENEZES *et al.*, 2014; TAYLOR, 1989).

1.1.1. Biologia da polinização em Lentibulariaceae

As flores de Lentibulariaceae são hermafroditas e podem apresentar hercogamia – separação espacial entre os órgãos reprodutivos masculinos e femininos; a corola é zigomorfa em forma de goela, dividida em lábios superior e inferior que escondem os órgãos reprodutivos; com cores vibrantes e em muitas espécies guias florais e palato; possuem cálcio e podem produzir néctar (FLEISCHMANN; ROCCIA, 2018; TAYLOR, 1989).

As características florais da família fazem com que a maioria das espécies seja associada à síndrome de polinização melitófila *cf.* Faegri e Van Der Pijl (1966), no entanto, diversos grupos de polinizadores são relatados (*e.g.* ARANGUREN *et al.*, 2018; HOBBAHN; KÜCHMEISTER; POREMBSKI, 2006; ZAMORA, 1999). Porém, são escassos trabalhos voltados à biologia reprodutiva e ecologia da polinização em Lentibulariaceae, enquanto que a morfologia vegetativa e genômica têm sido estudadas em ênfase (MIRANDA *et al.*, 2021).

Em *Utricularia*, existem dificuldades na classificação de espécies estreitamente relacionadas que são relacionadas à complexos dentro das seções (TAYLOR, 1989). Assim, estudos em biologia da polinização podem elucidar questões quanto aos mecanismos de isolamento geográfico, ecológico e reprodutivo, importantes ao maior entendimento da especiação e colaborar com a classificação e preservação de Lentibulariaceae.

1.2. *Utricularia damazioi* Beauverd

Em *Utricularia* sect. *Foliosa* Kamiński, 31 binômios foram sinonimizados em *Utricularia amethystina* Salzm. ex A.St.-Hil. & Girard, espécie-tipo da seção, formando um complexo de espécies (tratado nesse trabalho como *U. amethystina* s.l.) (TAYLOR, 1989). A classificação destes binômios foi custosa devido à diversidade morfológica das sementes, tamanho, formato e cor da corola (MENEZES *et al.*, 2014; TAYLOR, 1989).

São caracteres exclusivos de seção *Utricularia* sect. *Foliosa* armadilhas ovoides com apêndices cobertos por tricomas glandulares e cápsulas dorsiventralmente bivalvadas (TAYLOR, 1989). Atualmente esta seção é composta por mais duas espécies reconhecidas por Taylor (1989), *U. tridentata* Sylvén e *U. tricolor* A.St.-Hil.; uma espécie recentemente descoberta *U. biceps* Gonella & Baleeiro (GONELLA; BALEEIRO, 2018); e *U. trinervia* que foi reestabelecida como espécie, antes vinculada a *U. amethystina* s.l. (GUEDES *et al.*, 2021).

Utricularia amethystina s.l. têm distribuição disjunta pela região Neotropical, com registro em 18 países dos continentes americanos, desde os Estados Unidos (Flórida) ao sudeste do Brasil (GUEDES *et al.*, 2021; TAYLOR, 1989). Os morfotipos ocupam habitats de solo hidromórfico, apresentam hábito terrestre ou litófito, com folhas pecioladas e dispostas em roseta na base da inflorescência racemosa, a corola geralmente é violeta, porém, populações que apresentam corolas brancas ou amarelas ocorrem em menor frequência (TAYLOR, 1989). Estudos recentes, suportados por filogenia, diferenças morfológicas e geográficas, sugerem que *U. amethystina* s.l. seja um complexo de espécies (BALEEIRO; JOBSON; SANO, 2016; BALEEIRO; SANO; JOBSON, 2019; GUEDES *et al.*, 2021).

Utricularia damazioi Beauverd é atualmente incluída em *U. amethystina* s.l.. No entanto, Beauverd classificou *U. damazioi* como uma espécie distinta de *U. amethystina* s.s. (Figura 2A) devido ao hábito paucifloroso, folhas menores e corola unicolor violeta com um cálcio claviforme ereto, excedendo em menor proporção o lábio inferior (BOISSIER, 1907). Além disso, *U. damazioi* se distingue por possuir corola maior com lábio inferior proeminente e profundamente trilobado (Figura 2B), ocorrer em regiões de altitudes elevadas, restrita às áreas de campo rupestre, com registros no domínio Cerrado e se diferenciar filogeneticamente de *U. amethystina* s.s.. Dentre os morfotipos de *U. amethystina* s.l., *U. damazioi* apresenta floração em massa e têm maior ocorrência no Sudeste, em oposto a *U. amethystina* s.s de maior ocorrência no Nordeste (BALEEIRO; JOBSON; SANO, 2016; BALEEIRO; SANO; JOBSON, 2019; BALEEIRO *et al.*, 2022; MENEZES, 2015).

Considerada a diversidade morfológica de *U. amethystina* s.l., na qual, morfotipos podem florescer simultaneamente (BALEEIRO; JOBSON; SANO, 2016; SILVA *et al.*, 2016), ressaltamos a importância em contribuir para o conhecimento da biologia reprodutiva de *U. damazioi*, considerando a manutenção da variabilidade genética em populações naturais, de forma a contribuir para estratégias de conservação da biodiversidade.

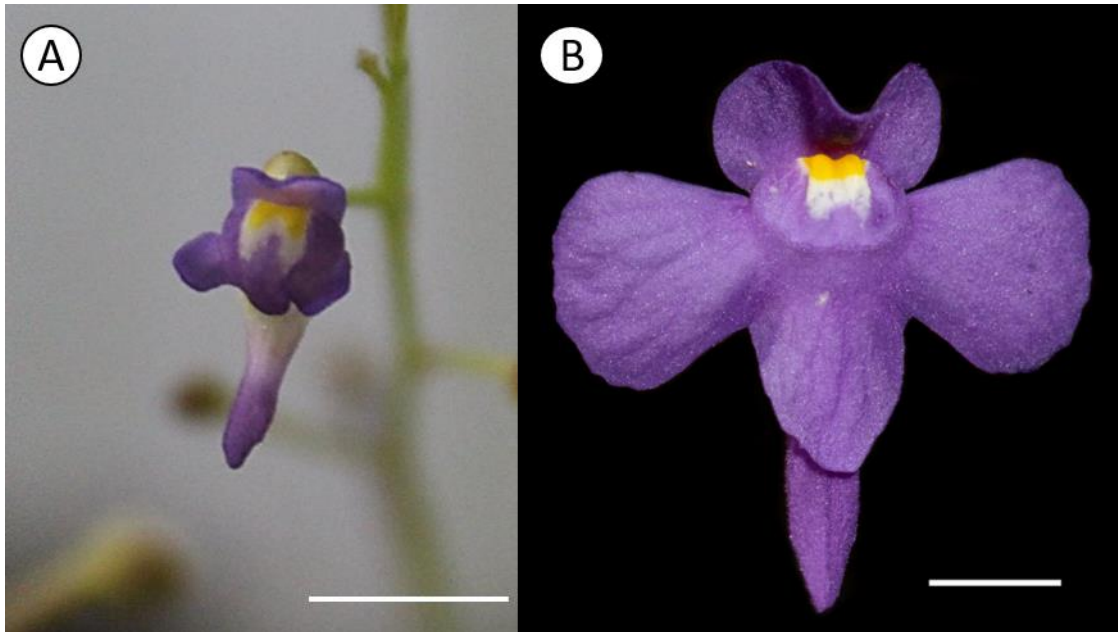


Figura 2 – Comparação entre (A) *Utricularia amethystina* s.s., população da Reserva Biológica Guaribas (BA) (Foto cedida por Felipe Guedes) e (B) *Utricularia damazioi*, população da Serra do Cipó (MG). Barra de escala = ~ 0,5 cm.

Desta forma, a fim de gerar maior conhecimento em biologia da polinização em Lentibulariaceae esta tese foi dividida em dois capítulos.

No primeiro capítulo buscamos, por meio de uma revisão sistemática abrangente, unir informações sobre o sistema reprodutivo, polinizadores, atrativos e recursos florais, a fim de avaliar o atual estado da arte em biologia da polinização em Lentibulariaceae.

A partir das informações levantadas na revisão sistemática, observamos se existem características florais preditivas quanto aos polinizadores, buscando padrões nas corolas de espécies polinizadas pelos mesmos grupos taxonômicos. Adicionalmente, inferimos filogeneticamente como características do sistema reprodutivo, atrativos e recursos florais divergiram evolutivamente entre os três gêneros de modo a elucidar os estados primitivos ou derivados e propor a flor plesiomórfica de Lentibulariaceae.

Por fim, após uma análise crítica dos estudos levantados, apontamos lacunas metodológicas e no conhecimento e, conseqüentemente direções a futuros estudos em biologia da polinização em Lentibulariaceae.

No segundo capítulo, buscamos avaliar a importância da reprodução sexuada em *Utricularia damazioi* e se há dependência de polinizadores, de forma elucidar como a espécie se mantém em ambientes isolados. Adicionalmente, acompanhamos mudanças na corola e nos órgãos reprodutivos durante a antese com objetivo de avaliar a importância de tais mudanças no sucesso da reprodução sexuada.

Também testamos a hipótese de *U. damazioi* ser polinizada por abelhas por meio da avaliação de comportamento de visita e papel ecológico dos visitantes florais. Nesta análise, incluímos o ajuste planta-polinizador para verificar sua aplicabilidade como inferência de eficácia. Além disso, avaliamos de que forma características florais são percebidas por polinizadores eficazes e podem funcionar como atrativos.

REFERÊNCIAS

- ADAMEC, L. Ecophysiological characteristics of turions of aquatic plants: A review. **Aquatic Botany**, v. 148, p. 64–77, 1 ago. 2018.
- ADAMEC, L. Turion overwintering of aquatic carnivorous plants. **Carnivorous Plant Newsletter**, v. 28, p. 19–24, 1999.

- ADAMEC, L.; KUČEROVÁ, A.; JANEČEK, Š. Mineral nutrients, photosynthetic pigments and storage carbohydrates in turions of 21 aquatic plant species. **Aquatic Botany**, v. 165, p. 103238, 1 jun. 2020.
- ARANGUREN, Y. *et al.* Reproductive biology and pollination of the carnivorous *Genlisea violacea* (Lentibulariaceae). **Plant Biology**, v. 20, n. 3, p. 591–601, maio 2018.
- BALEEIRO, PAULO C. *et al.* Unveiling *Utricularia amethystina*'s true colours: a taxonomic revision of one of the largest species complexes (*U. sect. Foliosa*, Lentibulariaceae). **Phytotaxa**, v. 576, n. 1, p. 29–54-29–54, 2022.
- BALEEIRO, P. C.; JOBSON, R. W.; SANO, P. T. Morphometric approach to address taxonomic problems: The case of *Utricularia* sect. *Foliosa* (Lentibulariaceae). **Journal of Systematics and Evolution**, v. 54, n. 2, p. 175–186, 2016.
- BALEEIRO, P. C.; SANO, P. T.; JOBSON, R. W. Molecular Phylogeny of the *Utricularia amethystina* Complex (*Utricularia* sect. *Foliosa*) Assessed Using Plastid and Nuclear Sequence Data. **Systematic Botany**, v. 44, n. 2, p. 398–404, 30 jun. 2019.
- BOISSIER, H. **Bulletin de l'Herbier Boissier**. [s.l.: s.n.]. v. 8
- CARMESIN, C. F. *et al.* Structural gradients and anisotropic hydraulic conductivity in the enigmatic eel traps of carnivorous corkscrew plants (*Genlisea* spp.). **American Journal of Botany**, v. 108, n. 12, p. 2356-2370, 2021.
- CASPER, S. J. Monographie der Gattung *Pinguicula* L. 1966.
- CLIVATI, D. *et al.* Reproductive biology and pollination of *Utricularia reniformis* A.St.-Hil. (Lentibulariaceae). **Plant Biology**, v. 16, n. 3, p. 677–682, 2014.
- DARWIN, C.; DARWIN, F. **Insectivorous Plants (London: Murray)**, 1875.
- DARWIN, C.; DARWIN, F. **Insectivorous plants**. [s.l.] J. Murray, 1888.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. The principles of pollination ecology, ix+ 248 pp. **Toronto & Oxford**, p. 157–159, 1966.
- FISCHER, E. *et al.* Lentibulariaceae. In: KADEREIT, J. W. (Ed.). . **Flowering Plants · Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae)**. The Families and Genera of Vascular Plants. Berlin, Heidelberg: Springer, 2004. p. 276–282.
- FLEISCHMANN, A. **Monograph of the genus *Genlisea***. [s.l.] Redfern Natural History Productions, 2012.
- FLEISCHMANN, A. Systematics and evolution of Lentibulariaceae: II. *Genlisea*. **Carnivorous plants: physiology, ecology and evolution. Oxford University Press, Oxford**, p. 81–88, 2018.
- FLEISCHMANN, A.; ROCCIA, A. Systematics and evolution of Lentibulariaceae: I. *Pinguicula*. In: **Carnivorous Plants**. [s.l.] Oxford University Press, 2018.
- Flora do Brasil**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 20 dez. 2021.

- GONELLA, P. M.; BALEEIRO, P. C. *Utricularia biceps* (Lentibulariaceae), a new carnivorous species endemic to the campos rupestres of Brazil. **Phytotaxa**, v. 376, n. 5, p. 214–222, 2018.
- GUEDES, F. M. *et al.* The identity of *Utricularia trinervia* (Lentibulariaceae): Taxonomic re-establishment and unpublished descriptions of trap morphology. **TAXON**, 2021.
- GUISANDE, C. Bladderworts. **Funct Plant Sci Biotechnol**, v. 1, p. 58–68, 2007.
- HESLOP-HARRISON, Y. *Pinguicula* L. **Journal of Ecology**, v. 92, n. 6, p. 1071–1118, 2004.
- HOBBAHN, N.; KÜCHMEISTER, H.; POREMBSKI, S. Pollination Biology of Mass Flowering Terrestrial *Utricularia* Species (Lentibulariaceae) in the Indian Western Ghats. **Plant Biology**, v. 8, n. 6, p. 791–804, nov. 2006.
- JOBSON, R. W.; ALBERT, V. A. Molecular Rates Parallel Diversification Contrasts between Carnivorous Plant Sister Lineages 1. **Cladistics**, v. 18, n. 2, p. 127–136, 2002.
- LEGENDRE, L. The genus *Pinguicula* L. (Lentibulariaceae): an overview. **Acta Botanica Gallica**, v. 147, n. 1, p. 77–95, jan. 2000.
- LLOYD, F. E. The carnivorous plants, (Chronica Botanica Co.: Waltham, MA). 1942.
- MCPHERSON, S.; FLEISCHMANN, A.; ROBINSON, A. **Carnivorous plants and their habitats**. [s.l.] Redfern natural history Productions Poole, UK, 2010. v. 1
- MENEZES, C. *et al.* Seed morphology of bladderworts: A survey on *Utricularia* sect. *Foliosa* and sect. *Psyllosperma* (Lentibulariaceae) with taxonomic implications. **Phytotaxa**, v. 167, p. 173–182, 9 maio 2014.
- MENEZES, C. G. Sistemática, evolução e biologia reprodutiva de *Utricularia* com ênfase para *Utricularia amethystina* Salzm. ex A.St.-Hil. & Girard (LENTIBULARIACEAE). Tese de Doutorado, FCAV – UNESP.
- MIRANDA, V. F. *et al.* A Historical Perspective of Bladderworts (*Utricularia*): Traps, Carnivory and Body Architecture. **Plants**, v. 10, n. 12, p. 2656, 2021.
- MOLAU, U. Reproductive ecology of the three Nordic *Pinguicula* species (Lentibulariaceae). **Nordic Journal of Botany**, v. 13, n. 2, p. 149–157, jun. 1993.
- MÜLLER, K.; BORSCH, T. Phylogenetics of *Utricularia* (Lentibulariaceae) and molecular evolution of the *trnK* intron in a lineage with high substitutional rates. **Plant Systematics and Evolution**, v. 250, n. 1, p. 39–67, 2005.
- MÜLLER, U. K. *et al.* Bladderworts, the smallest known suction feeders, generate inertia-dominated flows to capture prey. **New Phytologist**, v. 228, n. 2, p. 586–595, 2020.
- PŁACHNO, B. J. *et al.* Structural Features of Carnivorous Plant (*Genlisea*, *Utricularia*) Tubers as Abiotic Stress Resistance Organs. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 5143, jan. 2020.
- POPPINGA, S. *et al.* Biomechanical analysis of prey capture in the carnivorous Southern bladderwort (*Utricularia australis*). **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017.

- POPPINGA, S. *et al.* Fastest predators in the plant kingdom: functional morphology and biomechanics of suction traps found in the largest genus of carnivorous plants. **AoB Plants**, v. 8, 2016.
- REIFENRATH, K. *et al.* Trap architecture in carnivorous *Utricularia* (Lentibulariaceae). **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 201, n. 8, p. 597–605, 23 nov. 2006.
- REUT, M. S. Trap structure of the carnivorous plant *Genlisea* (Lentibulariaceae). **Botanica Helvetica**, v. 103, n. 1, p. 101–111, 1993.
- SCHMUCKER, T.; LINNEMANN, G. **Carnivorie. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. XI.** Springer Berlin-Göttingen-Heidelberg, , 1959.
- SILVA, N. G. *et al.* Lentibulariaceae, Serra de São José, Minas Gerais, Brazil. **Check List**, v. 7, n. 2, p. 120–127, 2016.
- SILVA, S. *et al.* Molecular phylogeny of bladderworts: A wide approach of *Utricularia* (Lentibulariaceae) species relationships based on six plastidial and nuclear DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 118, p. 244–264, 2018.
- TAYLOR, P. The genus *Utricularia*. A taxonomic monograph. **Kew Bulletin**, p. 1–724, 1989.
- ZAMORA, R. Conditional outcomes of interactions: the pollinator–prey conflict of an insectivorous plant. **Ecology**, v. 80, n. 3, p. 786–795, abr. 1999.

1 **CAPÍTULO 1: Biologia reprodutiva em Lentibulariaceae Rich.: revisão sistemática**
2 **e evolução**

3

4 Capítulo formatado para publicação no periódico Plant Biology (normas em anexo)

5 REVISÃO

6 **RESUMO**

7 Lentibulariaceae é uma família de plantas carnívoras diversa por apresentar alto
8 número de espécies com ampla distribuição e diferentes padrões morfológicos. Além
9 disso, são encontradas peculiaridades morfológicas como a adaptação a diferentes
10 ambientes e redução de genomas, de forma que algumas espécies têm sido propostas
11 como organismos-modelos. Porém, trabalhos em biologia reprodutiva são escassos,
12 os quais podem ser importantes para maior entendimento e subsídios para a
13 preservação das espécies na família. Buscamos entender o estado da arte em biologia
14 reprodutiva de Lentibulariaceae, por meio de uma revisão sistemática abrangente e
15 análise crítica. Além de apontar características florais associadas à predição de
16 polinizadores, e que possam interferir no sistema reprodutivo, mostramos como
17 atributos florais e o sistema reprodutivo evoluíram na família por meio de uma
18 filogenia existente para o grupo de forma a propor a flor plesiomórfica da família. Por
19 fim, apontamos lacunas e expomos direções a trabalhos de biologia reprodutiva na
20 família. Diversos táxons são visitantes em Lentibulariaceae, no entanto, o déficit de
21 análises da performance do polinizador impossibilitou estabelecer relações
22 significativas entre polinizadores e características florais. Consideramos o espaço
23 entre o lábio inferior da corola e os órgãos reprodutivos importantes ao encaixe planta-
24 polinizador e consequente sucesso da polinização. Além desta, a reflectância floral
25 parece ser promissora na predição de polinizadores. Possivelmente o ancestral era

1 alógamo e autocompatível, com características associadas à melitofilia e polinização
2 cruzada. Características recentes que promovem autofecundação, como a hercogamia
3 temporária, corroboram uma possível mudança de alogamia para autogamia na
4 família. Adicionalmente, características que promovem a fecundação cruzada são
5 mantidas de forma a garantir o sucesso reprodutivo. Devido à especificidade dos
6 microambientes onde ocorrem espécies de Lentibulariaceae, perturbações antrópicas
7 são capazes de destruir populações, assim como reduzir populações de polinizadores
8 adequados. Desta forma, adaptações do sistema reprodutivo que promovam a
9 autogamia podem ter evoluído como respostas a perturbações ambientais.

10

11 **Palavras-chave:** flor plesiomórfica, hercogamia, plantas carnívoras,
12 polinizadores, reflectância floral, tricomas florais, visitantes florais.

13

14

1 **INTRODUÇÃO**

2 Lentibulariaceae Rich. é uma família de plantas carnívoras herbáceas, composta
3 por três gêneros: *Pinguicula* L., *Genlisea* A.St-Hil e *Utricularia* L., que possuem
4 armadilhas distintas (Król *et al.* 2012; Ellison & Adamec 2018). Enquanto *Pinguicula*
5 captura e digere suas presas por meio de folhas mucilaginosas, *Genlisea* e *Utricularia*
6 apresentam armadilhas subterrâneas de origem foliar: bifurcações espiraladas
7 denominadas rizofilos em *Genlisea* e vesículas, denominadas utrículos em *Utricularia*
8 (Fleischmann & Rocca 2018; Miranda *et al.* 2021).

9 Espécies de Lentibulariaceae, principalmente as pertencentes ao clado *Genlisea-*
10 *Utricularia*, são potenciais candidatas a organismo-modelo a diversas áreas de pesquisa.
11 Nestas plantas os órgãos vegetativos apresentam transição difusa devido à expressão
12 ectópica de genes, dificultando sua classificação ou identificação (morfologia FAM -
13 *Fuzzy Arberian Morphology*) (Rutishauser & Isler 2001; Rutishauser 2016; Reut &
14 Płachno 2020, 2022; Miranda *et al.* 2021). Além disso, é reportado em algumas espécies,
15 as maiores taxas de substituição nucleotídica dentre as angiospermas (Jobson & Albert
16 2002; Wicke *et al.* 2014; Carretero-Paulet *et al.* 2015), contração genômica em diversas
17 linhagens (Veleba *et al.* 2014) e cromossomos de dimensões comparáveis aos bacterianos
18 (Greilhuber *et al.* 2006; Albert *et al.* 2010; Ibarra-Laclette *et al.* 2011; Leushkin *et al.*
19 2013; Fleischmann *et al.* 2014).

20 Quando comparada às demais famílias de plantas carnívoras, Lentibulariaceae tem
21 origem recente (ca. 43 Mya) (Fleischmann *et al.* 2018), de forma que, as altas taxas
22 evolutivas podem explicar a ampla distribuição e diversidade morfológicas encontradas.
23 Além das peculiaridades vegetativas e genômicas, estas espécies apresentam um rico
24 conjunto de padrões morfológicos, principalmente quando comparados os órgãos
25 vegetativos, e cores nas corolas (Ellison & Adamec 2018).

1 Em *Pinguicula* ca. de 100 espécies terrestres ou litófitas estão distribuídas em
2 todos os continentes exceto a Oceania e Antártida (Fleischmann & Roccia 2018; Shimai
3 *et al.* 2021). As flores são abertas e tubulares de forma que o acesso ao recurso presente
4 no cálcio, e conseqüentemente aos órgãos reprodutivos é facilitado (Fleischmann &
5 Roccia 2018). Algumas espécies apresentam protuberâncias no lábio inferior da corola
6 que parecem mimetizar pólen, movimentos násticos noturnos e corolas com simetria
7 subradial (subg. *Isoloba*), considerando que a maior parte das espécies apresenta corola
8 zigomorfa (Fleischmann 2016).

9 *Genlisea* apresenta 31 espécies em sua maioria terrestres, distribuídas pelas
10 regiões tropical e subtropical da América Central e América do Sul, África Subsaariana
11 e Madagascar (Fleischmann 2018; Silva *et al.* 2020). Em *Genlisea*, existem dois tipos
12 florais: hipocrateriformes (subgênero *Tayloria*) e personadas (“*snapdragon*” ou máscara)
13 (subgênero *Genlisea*), que possuem um palato protuberante que cobre o acesso ao cálcio
14 e órgãos reprodutivos (Fleischmann 2018).

15 *Utricularia* é o gênero mais numeroso com ca. 250 espécies de distribuição
16 cosmopolita (com exceção dos polos e regiões desérticas), que colonizam diversos
17 habitats: aquáticos, terrestres, litofíticos, reofíticos e epifíticos (Taylor 1989; Silva *et al.*
18 2018). Em *Utricularia* as flores também são personadas, mas ocorrem espécies nas quais
19 o palato não cobre totalmente o acesso ao recurso (*e.g. U. vulgaris*) (Płachno *et al.* 2018b)
20 e espécies em que o palato forma uma borda em uma invaginação, de forma que o cálcio
21 (geralmente diminuto) é facilmente acessado (*e. g. U. bremii*) (Płachno *et al.* 2017a).

22 Em Lentibulariaceae as flores são hermafroditas, apresentam dicogamia e
23 hercogamia de aproximação, na qual, há separação espacial dos órgãos reprodutivos, de
24 modo que o estigma é apresentado anteriormente às anteras (Webb & Lloyd 1986). As

1 espécies estudadas até o momento, são em sua maioria autocompatíveis (Jérémie 1989;
2 Fleischmann 2012; Mues 2020) sendo a autogamia difundida no gênero *Utricularia*.

3 Ainda que a maioria das espécies possuam características florais que se encaixam
4 na síndrome de polinização melitófila (bilabiadas, zigomorfas, formato de goela, guias
5 florais; *sensu* Faegri & van der Pijl 1966) não são encontradas apenas abelhas como
6 polinizadores (García *et al.* 1994; Hobbhahn *et al.* 2006; Aranguren *et al.* 2018).
7 Efetivamente, o conceito de síndrome de polinização, no qual adaptações florais são
8 convergentes a grupos de polinizadores que mais contribuem para o sucesso reprodutivo
9 (Stebbins 1970; Fenster *et al.* 2004; Ashworth *et al.* 2015) tem passado por
10 reformulações. Revisões e metanálises postulam que é necessário abranger a diversidade
11 floral existente a partir de uma perspectiva ecológica de polinização funcional (Ollerton
12 *et al.* 2009; Rosas-Guerrero *et al.* 2014).

13 Plantas carnívoras geralmente apresentam especificidade ao hábitat, ocorrendo em
14 solos úmidos e pobres em nutrientes (Ellison & Adamec 2018; Cross *et al.* 2020).
15 Mudanças ambientais, naturais ou devido às ações antrópicas, podem dizimar populações
16 inteiras de Lentibulariaceae devido à sensibilidade das espécies (Garcia *et al.* 1994;
17 Hobbhahn *et al.* 2006). A longo prazo, essas mudanças podem afetar a fenologia das
18 espécies, como mudanças sazonais de brotamento, hibernação, antese e incompatibilidade
19 planta-polinizador (Richardson *et al.* 2013; Gérard *et al.* 2020). No entanto, são escassos
20 trabalhos em biologia reprodutiva e ecologia da polinização, necessários para maior
21 entendimento da dinâmica populacional e das relações ecológicas e conservação de
22 Lentibulariaceae.

23 Assim, de forma a agregar informações sobre polinizadores, características
24 reprodutivas e florais em Lentibulariaceae, nossos objetivos foram: (1) Apresentar o atual
25 estado da arte de biologia reprodutiva na família, por meio de uma revisão sistemática

1 abrangente; (2) Levantar características florais que possam ser preditivas quanto aos
2 polinizadores; (3) Inferir como características florais reprodutivas e atrativas evoluíram
3 nos diferentes gêneros de forma a propor a flor plesiomórfica para a família e (4) Apontar
4 lacunas metodológicas e, conseqüentemente direções a futuros estudos em biologia
5 reprodutiva e da polinização em Lentibulariaceae.

6

7 **MATERIAL E MÉTODOS**

8 **Busca e triagem dos estudos**

9 Buscamos para cada gênero os termos “polinat*”, “reproductive system”, “floral
10 traits” e sinônimos (Apêndice S1) nas bases de dados *Web of Science* e *Scopus*, também
11 fizemos uma verificação no *Google Scholar*. Não delimitamos o período ou idioma e
12 fizemos inclusões manuais por indicação de especialistas e busca de citações
13 (*snowballing*). Consideramos literatura convencional: livros, periódicos acadêmicos,
14 boletins e jornais, que possuem numeração internacional (DOI, ISSN ou ISBN) e não
15 convencional: trabalhos de conclusão de curso, dissertações, teses, boletins e jornais, sem
16 numeração internacional, ou seja, menos convencionais e de menor alcance (Botelho &
17 de Oliveira 2015).

18 Usamos como critério de inclusão estudos que apresentaram ao menos
19 informações sobre os visitantes florais; sistema reprodutivo; atrativos; tricomas ou
20 recursos florais. Excluímos estudos que não incluíram o local, método de observação e
21 tipo de polinizador para registro ao menos da ordem taxonômica e estudos que trouxessem
22 informações já levantadas na revisão (*apud*). Realizamos a triagem e exclusão de
23 duplicatas com auxílio do *software online* Parsifal (2021).

24

1 **Extração, sumarização e análise de dados**

2 Extraímos de forma sistematizada informações previamente selecionadas
3 (Apêndice S2). Identificamos taxonomicamente as espécies de acordo com a literatura e
4 bancos de dados (Taylor 1989; Tropicos 2021; Guedes *et al.* 2022). Categorizamos as
5 informações extraídas quanto a: (A) Polinizador, modificado de Monteiro *et al.* (2021);
6 (B) Sistema reprodutivo; (C) Atrativos florais; (D) Tricomas e (E) Néctar. As descrições
7 detalhadas das categorias e subcategorias estão na Tabela S1.

8 Devido ao fato de que nem todos os estudos realizaram testes necessários para
9 identificação do sistema reprodutivo, analisamos de forma crítica as informações
10 levantadas e com base na literatura (Lloyd & Schoen 1992; Goodwillie *et al.* 2005) e
11 metodologias aplicadas (amostragem e testes empíricos). Desta forma, classificamos a
12 dependência de polinizadores e o sistema reprodutivo. Adicionalmente, calculamos
13 índices de autocompatibilidade (SC) e autofecundidade (SF) (Lloyd & Schoen 1992),
14 quando possível.

15 Quando aos recursos, neste trabalho categorizamos e interpretamos os resultados
16 de composição do néctar de acordo com a razão $S/(F + G)$ de dissacarídeo sacarose (S) e
17 hexoses glicose (G) e frutose (F) (Baker & Baker 1990).

19 **Associação entre aspectos florais e polinizadores**

20 Com o objetivo de avaliar se existe associação entre polinizadores e aspectos
21 florais, selecionamos a taxonomia de (1) visitantes legítimos: que tocam os órgãos
22 reprodutivos, e (2) polinizadores eficazes: avaliados quanto à inferência da performance,
23 seja por eficácia (transferência de pólen) ou eficiência (reflexo do sucesso reprodutivo da
24 planta após a visita do polinizador) (Ne'eman *et al.* 2009).

1 Das flores polinizadas, selecionamos: (1) Tipo floral: tubular, tubular com palato
2 conspicuo (protuberante com tricomas), hipocrateriforme, personada fechada, personada
3 aberta e personada aberta com invaginação do palato; (2) Cor da corola: branca (branca a
4 creme), amarela, roxa (lilás, arroxeadada e azulada) e vermelha; (3) Reflectância UV:
5 absorção UV, reflexão UV e padrão bullseye (reflexão UV nas pétalas e absorção UV no
6 centro).

7 Para mostrar as inter-relações levantadas, utilizamos Chord Diagrams com uso do
8 programa R v. 4.1.3 (R Core Team 2022), pacote circlize (Gu *et al.* 2014). Para avaliar
9 se há associação entre as características florais e o grupo polinizador, realizamos testes
10 qui-quadrado generalizados assintóticos de Pearson com testes post hoc de
11 independência, as análises estatísticas foram realizadas em R v. 4.1.3 (R Core Team
12 2022), com uso do pacote fifer (Fife & Fife 2017).

13

14 **Evolução de características florais**

15 A fim de discutir a evolução de características florais em Lentibulariaceae,
16 plotamos em uma hipótese filogenética (Silva *et al.* 2018), as seguintes informações: tipo
17 de sistema reprodutivo (apenas resultados de experimentos controlados – Tabela A1);
18 dicogamia; tipo de hercogamia; reflectância UV, cor das pétalas, presença e composição
19 do néctar e presença de odor. Adicionalmente, incluímos o tipo de corola, diferenciado
20 neste trabalho em seis morfologias: (1) tubular, (2) tubular com projeção do palato, (3)
21 hipocrateriforme (4) personada fechada, (5) personada aberta e (6) personada com palato
22 formando invaginação. As análises foram realizadas por meio de máxima
23 verossimilhança (Mk1 model) com uso do *software* Mesquite ver 3.70 (Maddison &
24 Maddison 2010).

1

2 **RESULTADOS**

3 **Literatura incluída**

4 Incluímos no total 70 estudos (Apêndice S3). A maioria foi proveniente de
5 indicação de especialistas e busca de citações (78,5%), seguidos das buscas nos bancos
6 de dados (28,5%) (Fig. 1). Os estudos incluídos manualmente compreendem diversas
7 famílias, de forma que, não possuem palavras chaves associadas à Lentibulariaceae e não
8 retornaram nas buscas dos bancos de dados. Dois estudos ainda não publicados também
9 foram incluídos (Dolsan et al. em prep.; Rodrigues et al. em prep.). Estudos que
10 retornaram das buscas foram excluídos principalmente em *Pinguicula*, por analisaram o
11 conflito polinizador-presa sem informações sobre polinizadores e em *Utricularia* por
12 trazerem características sobre armadilhas e presas e não acerca da biologia floral.

13 A literatura foi majoritariamente do tipo branca representada principalmente por
14 periódicos científicos (Fig. 2A). Atrativos, tricomas e recursos florais foram menos
15 estudados (Fig. 2B). *Utricularia* foi gênero o mais estudado (n = 46 estudos) porém,
16 *Pinguicula* foi o maior representado quanto à abrangência em número de espécies no
17 gênero (n = 52 espécies, 49% do gênero) (Fig. 2C). Os estudos são mais expressivos a
18 partir da década de 80, com pico maior na última década. Somente a partir de 1995 surgem
19 estudos em *Genlisea* (Fig. 2C), que são em menor número, provavelmente devido à
20 distribuição restrita destas espécies.

21

22 **Visitantes e polinizadores**

1 Em Lentibulariaceae os polinizadores pousam sobre o lábio inferior da corola e
2 adentram a flor em busca de recurso, possivelmente néctar. Devido à disposição dos
3 órgãos reprodutivos os visitantes tocam primeiramente a face receptiva do estigma e
4 depois as anteras. Geralmente é relatada a presença de espaço entre o estigma e anteras,
5 caracterizando a presença de hercogamia de aproximação. Assim, durante a saída da flor,
6 os polinizadores não conseguem tocar novamente a parte receptiva do estigma
7 dificultando a autopolinização. São visitantes florais legítimos moscas, borboletas,
8 abelhas, vespas e pássaros (Tabela S3).

9

10 *Pinguicula*

11 Encontramos 15 estudos que relatam visitantes florais, porém apenas oito
12 registraram se houve visita legítima e dois avaliaram a performance do polinizador
13 (Tabela 1). Observações crepusculares ocorreram em *P. vallisneriifolia* (Zamora, 1999),
14 porém sem resultados. Um estudo infere os polinizadores unicamente com base na
15 literatura e morfologia floral das espécies (Tabela 1; A5).

16 A grande maioria dos visitantes florais registrados são moscas. No entanto,
17 também são capazes de realizar visitas legítimas abelhas, borboletas e trips
18 (Thysanoptera) (Tabela S3). São polinizadores eficazes Diptera: Syrphidae e
19 Lepidoptera: Pieridae (Tabela S3; A1) avaliados quanto à deposição de pólen no corpo
20 ou probóscide após a visita. As observações empíricas de polinizadores se concentram
21 em Cuba e EUA, as publicações são em maior parte de origem espanhola, onde também
22 estão a maioria dos grupos de pesquisa (Fig. 3A; Tabela S4).

23

1 *Genlisea*

2 Encontramos dois estudos que relatam visitantes florais em três espécies de
3 *Genlisea* porém, apenas um analisou a performance dos visitantes florais (Tabela 1). São
4 visitantes florais abelhas, moscas e borboletas, dos quais borboletas são ilegítimos
5 (Tabela S3). São polinizadores eficazes abelhas Hymenoptera: Apidae e Halictidae,
6 analisadas quanto à deposição de pólen no corpo do visitante, germinação das sementes
7 após as visitas e morfometria comparada entre os visitantes e a abertura da corola (entrada
8 do cálcio) (Aranguren *et al.* 2018). As observações empíricas ocorreram no Brasil e Serra
9 Leoa. As publicações são dos EUA e Alemanha e os grupos de pesquisa são da Alemanha,
10 Brasil, Colômbia e Polônia (Fig. 3B; Tabela S4).

11 12 *Utricularia*

13 Encontramos 22 estudos que relatam visitantes florais em 22 espécies de
14 *Utricularia*, porém apenas sete estudos registraram se houve visita legítima e quatro
15 estudos analisam a performance do visitante (Tabela 1). Em maior parte, os visitantes
16 foram borboletas (Fig. 3C; Tabela S2), são capazes de realizar visita legítima abelhas,
17 borboletas, moscas, mariposas, vespas e pássaros (Tabela S3).

18 Os polinizadores eficazes registrados são Hymenoptera: Apidae inferido por meio
19 da taxa de frutificação após visitas únicas; Hymenoptera: Apidae, Lepidoptera:
20 Hesperiiidae, Noctuidae sp. e Sphingidae, inferidos por meio de análises da remoção de
21 pólen das anteras e deposição de pólen no estigma pelos visitantes (Hobbhahn *et al.*
22 2006). Hymenoptera: Apidae, Halictidae, Sphecidae e *Ceratina* sp., Diptera: Syrphidae
23 inferidos por meio de análise de deposição de pólen do estigma após visitas únicas
24 (Chaudhary *et al.* 2018). Diptera: Syrphidae inferido por meio da deposição de pólen no
25 corpo do visitante (Plachno *et al.* 2018) e Hymenoptera: Apidae, Halictidae por meio da

1 análise de pólen depositado no corpo e morfometria comparada dos visitantes e corola
2 (Tabela S3).

3 Observações crepusculares e noturnas registraram visitantes em Dolsan *et al.* (em
4 prep.) e não obtiveram resultados em (Hobbhahn *et al.* 2006). Dois estudos definem de
5 forma indireta os polinizadores (Tabela1; A5). Taylor (1989) relata em uma excisata a
6 visita de passeriforme (sem mais informações) em *Utricularia campbelliana* e Lowrie
7 (2001) acrescenta informações sobre a taxonomia e legitimidade das visitas registradas
8 por Keighery (1982) (Tabela 1; A3), em conversa com o mesmo.

9 As observações se concentram na Índia, Brasil e Austrália (Fig. 3C), enquanto que
10 os grupos de pesquisas com maior número de publicações são do Brasil, Austrália e
11 Polônia. As publicações são em maioria internacionais, de nacionalidade americana e
12 alemã (Tabela S4).

13

14 **Sistema reprodutivo**

15 O sistema reprodutivo foi mais estudado em *Pinguicula*, seguido de *Utricularia* e
16 *Genlisea*. Além da hercogamia de aproximação é relatado outros tipos de hercogamia,
17 dos quais podem coocorrer na mesma espécie, assim como a ausência de hercogamia
18 (Tabela 2). São descritas a hercogamia temporária na qual há a diminuição do espaço
19 entre anteras e estigma durante a antese, favorecendo a autopolinização (Willmer 2011).
20 E a hercogamia de movimento na qual o estigma é sensível ao toque, e seu rápido
21 movimento evita que a parte receptiva entre em contato com o visitante quando o mesmo
22 está deixando a flor (Webb & Lloyd 1986; Fetscher & Kohn 1999) ou forrageando por
23 longos períodos (Friedman *et al.* 2017) diminuindo a probabilidade de autopolinização
24 mediada por vetor (*e.g.* Clivati *et al.* 2014).

1

2 *Pinguicula*

3 Dos estudos que testaram o sistema reprodutivo por meio de experimentos
4 controlados, observamos que as espécies de *Pinguicula* apresentam sistemas reprodutivos
5 mistos a predominantemente alógamos. Na maioria das espécies é observada alta
6 dependência de vetores de polinização, visto que a autopolinização espontânea é rara,
7 resultando em índices de autofertilidade (SF) nulos (Tabela 2; B1).

8 Nas espécies com sistemas reprodutivos mistos a predominantemente alógamos,
9 as sementes na natureza podem ser resultantes de uma mistura de fecundação cruzada e
10 autopolinização mediada por vetor ou geitonogamia, devido à autocompatibilidade (SC)
11 (e.g. Zamora *et al.* 1996; Villegas & Alcalá 2018).

12 Nas poucas espécies em que a autopolinização espontânea é relatada, a
13 dependência de vetores é baixa, pois se a polinização cruzada não ocorrer, as espécies
14 têm a possibilidade de se autofecundar devido à presença de hercogamia temporária. Em
15 *P. vulgaris*, por exemplo, é relatada hercogamia “parcial” (Molau 1993), mais detalhada
16 como o contato do estigma com as anteras ao longo da antese (Heslop-Harrison 2004;
17 Nordin 2015).

18 Dos estudos que definiram o sistema reprodutivo sem experimentos controlados,
19 observamos maior número de espécies que foram capazes de se autopolinizar
20 espontaneamente (Tabela 2; B2). No entanto, ainda observamos alta dependência de
21 polinizadores. Estudos que definem de forma indireta o sistema reprodutivo, integraram
22 informações sobre dicogamia e autopolinização espontânea (Tabela 2; B3).

23 Resultados divergentes entre estudos corroboram com a hipótese de que pode
24 haver variações populacionais quanto à autopolinização espontânea. São exemplos *P.*

1 *alpina* (Molau 1993; Heslop-Harrison 2004; Nordin 2015) e *P. pumila* (Fleischmann
2 2016; Bradford *et al.* 2020). Em *P. lilacina* é relatada a variação interpopulacional
3 (Fleischmann 2016). Em *P. vulgaris*, além dos estudos já mencionados, também ocorre
4 dentro da mesma população indivíduos que se autopolinizam em fase de botão, devido à
5 ausência de hercogamia e indivíduos em que, durante a antese, as anteras se posicionam
6 lateralmente distantes da parte receptiva do estigma, favorecendo a polinização cruzada
7 (Pushkareva *et al.* 2018)

8 Nas espécies relatadas, a duração da antese teve mediana (Md) = 12 dias, a
9 dicogamia na maioria foi protândrica e, além da hercogamia temporária, a de movimento
10 também foi observada. A viabilidade polínica foi alta (Md = 99%) (Molau 1993;
11 Pushkareva *et al.* 2018), e a receptividade estigmática relatada apenas uma espécie, na
12 qual o estigma foi receptivo durante toda a vida da flor (Villegas & Alcalá 2018). A razão
13 pólen/ óvulo (P/O) foi baixa (Md = 28,3), valores superiores a 100 aparecem foram
14 reportados por Molau (1993), com divergências para *P. alpina* e *P. vulgaris* em Nordin
15 (2015) (Tabela 2).

16

17 *Genlisea*

18 Um estudo testou o sistema reprodutivo por meio de experimento controlado, no
19 qual observamos que *G. violacea* é predominantemente alógama, com alta dependência
20 de polinizadores, visto os baixos índices SC e SF (Tabela 2; B1). No mesmo estudo, é
21 relatada a presença de hercogamia, viabilidade polínica alta (80% decrescente para 45%
22 após 48 horas) e 100% de receptividade estigmática em flores abertas (Aranguren *et al.*
23 2018).

1 Por meio de observação direta em casa de vegetação, registraram-se espécies
2 capazes de se autopolinizar quando realizados testes manuais, das quais, as de corolas
3 menores se autopolinizaram espontaneamente, enquanto que as de corolas maiores não
4 (Tabela 2; B2). *Genlisea violacea* foi observada nos dois estudos e diverge quanto ao
5 resultado de autopolinização espontânea, provavelmente devido a diferenças quanto à
6 amostragem, visto que o índice SF é baixo nesta espécie. Até o presente estudo, não há
7 informações sobre a dicogamia e outros tipos de hercogamia no gênero.

8

9 *Utricularia*

10 Dos estudos que testaram o sistema reprodutivo por meio de experimentos
11 controlados, observamos que a maioria das espécies apresenta sistemas reprodutivos
12 mistos e são autocompatíveis, com maior proporção de espécies dependentes de vetores
13 de polinização devido ao baixo índice SF (Tabela 2; B1).

14 No entanto, observamos unicamente em *Utricularia*, algumas espécies de sistema
15 reprodutivo misto que apresentam altos índices SC e SF. Nestes casos, o sucesso
16 reprodutivo pode ser alcançado tanto na presença de vetor pela reprodução cruzada e
17 autopolinização mediada por vetor (na própria flor ou indivíduo – geitonogamia) ou
18 ainda, na ausência de vetores de polinização devido a hercogamia temporária e ausência
19 de hercogamia, relatadas (Yamamoto & Kadono 1990; Chaudhary *et al.* 2018) Rodrigues
20 *et al.* em prep.). Em *Utricularia* a hercogamia temporária ocorre pelo dobramento da
21 borda estigmática (Kondo 1972), alongamento dos filetes (Kausik & Raju 1955;
22 Chaudhary *et al.* 2018) ou ambos (Khosla *et al.* 1998).

23 Assim como observado em *Pinguicula vulgaris*, é relatada a cleistogamia pré-
24 antese (Lord 1981) em *U. inflexa*, na qual ocorre a autopolinização em fase de botão.

1 Pouco analisada, a agamospermia obteve baixo sucesso reprodutivo, Hobbhahn *et al.*
2 (2016) relatam possível contaminação do próprio pólen da planta ao ser emasculada
3 devido ao tamanho diminuto da corola.

4 Observações diretas sem experimentos sistematizados mostram espécies capazes
5 de se autopolinizar espontaneamente, provavelmente devido à ausência de hercogamia
6 nestas espécies (Tabela 2; B2). A ausência de dados em relação a amostragem e outros
7 testes dificulta inferir sobre o sistema reprodutivo e a real dependência de polinizadores.
8 Resultados divergentes são observados em *U. amethystina* quanto à autopolinização
9 espontânea, que podem ser referentes a diferenças de amostragem ou ainda, por questões
10 taxonômicas, uma vez que *U. damazioi* faz parte de um complexo de espécies outrora
11 sinonimizadas como *U. amethystina* (Taylor 1989; Rodrigues *et al.* em prep.).

12 Dos estudos que definiram indiretamente o sistema reprodutivo, Knuth (1898)
13 observou que a autopolinização em *U. vulgaris* é rara e os demais acrescentam
14 informações sobre a hercogamia (Hildebrand 1869; Newcombe 1924).

15 Mais de um estudo analisou a mesma espécie, de forma que os resultados foram
16 incongruentes em *U. reticulata*, com ausência de hercogamia em Kausik & Raju (1955)
17 e presença em Hobbhahn *et al.* (2006); e em *U. amethystina* ausente em (Jérémié 1989)
18 e presente em Menezes (2015).

19 A duração da antese teve Md = 8 dias e a dicogamia foi relada em duas espécies
20 protândricas e duas protogínicas. A viabilidade polínica foi alta (Md = 91%)
21 acompanhada por 48h em Menezes (2015) e até o final da antese por Chaudhary *et al.*
22 (2018). Quando avaliado, o estigma foi receptivo durante toda a antese. A razão P/O foi
23 baixa (Md = 19).

24

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

Atrativos florais

Dentre os atrativos florais visuais, encontramos informações sobre a reflectância da corola e sua percepção por polinizadores. No entanto, apenas três estudos são focados em Lentibulariaceae (García *et al.* 1994; Dolsan em prep.; Rodrigues *et al.* prep.). Burr *et al.* (1995) relatam que a maioria das espécies de Lentibulariaceae analisadas (44%) apresentam padrão UV na corola, no entanto, estes não foram especificados. Quanto ao odor, estudos relataram a sua presença com alguma descrição organoléptica, sem análises de voláteis (Tabela 3).

Pinguicula

Dos estudos que analisaram a reflectância nas corolas de *Pinguicula*, observamos que a absorção UV é mais frequente nas pétalas e anteras. Quatro espécies apresentaram absorção no centro e reflexão nas pétalas, indicando possível padrão *bullseye* (Tabela 3; C1). Arnold *et al.* (2009) foram os únicos a verificar como a reflectância da corola é percebida por possíveis polinizadores, da qual é distinguida por abelhas e moscas. Apenas a presença de odor é relatada em *P. vulgaris* (Kerner 1894 *apud* Heslop-Harrison 2004) (Tabela 3; C2).

Genlisea

Em *Genlisea*, os resultados mostram reflectância UV na corola, sem padrão UV em duas espécies (Tabela 3; C1). Não foram encontradas informações sobre odor.

1 *Utricularia*

2 Dos estudos que analisaram os atrativos visuais observamos a ocorrência do
3 padrão *bullseye*: absorção UV no centro (palato) e reflexão UV nas pétalas em estudos
4 que mostram as diferentes estruturas (Lunau 2007; Mues 2020). Na maioria das espécies
5 é descrita a absorção UV na corola (Tabela 3; C1). A percepção da reflectância da corola
6 no limiar de visão de polinizadores é descrita apenas em três trabalhos (Bergamo *et al.*
7 2021; Dolsan *et al.* em prep.; Rodrigues *et al.* em prep.), coerentes com os polinizadores
8 observados para estas espécies (Clivati *et al.* 2014; Dolsan *et al.* em prep.; Rodrigues *et*
9 *al.* em prep.).

10 O odor quando relatado é adocicado, com exceção de *U. neottiodides*, que com
11 odor mais fermentado (semelhante a Annonaceae) atrai Dipteros, polinizadores da
12 espécie (Dolsan *et al.* em prep.).

13

14 **Tricomas**

15 Observamos uma alta diversidade de tricomas tectores e glandulares nas pétalas
16 (incluindo o palato) e no cálcx de Lentibulariaceae. O maior número de estudos ocorreu
17 em *Utricularia* (Tabela 4).

18

19 *Pinguicula*

20 Em *Pinguicula*, grande parte das espécies apresenta tricomas proeminentes na
21 entrada da flor (*e.g.* *P. alpina*). Em algumas espécies foi encontrado amido nestes tipos
22 de tricomas tectores, sugerindo que estes podem atuar como recompensa alimentar.
23 Tricomas glandulares também são encontrados, porém sem análises histoquímicas
24 (Tabela 4). No cálcx além de tricomas tectores são encontrados tricomas glandulares

1 relacionados com a produção de néctar, similares entre as espécies estudadas e demais
2 gêneros na família (Tabela 4).

3

4 *Genlisea*

5 Na corola de *Genlisea* são relatados tricomas tectores e glandulares (Tabela 4).
6 Um estudo sugere que tricomas glandulares encontrados em espécies do subgênero
7 *Genlisea* podem ter funcionalidade de osmóforos, ao encontrar lipídeo em tricomas no
8 palato de *G. hispidula*, em associação com a ultraestrutura celular. Tais tricomas são
9 morfológicamente semelhantes nas demais espécies estudadas (Płachno *et al.* 2018a). Em
10 uma espécie do subgênero *Tayloria* também são relatados tricomas tectores e glandulares
11 no palato, os presentes no cálcio se assemelham aos de *Utricularia* e são associados à
12 produção de néctar (Aranguren *et al.* 2018).

13

14 *Utricularia*

15 Em *Utricularia* observamos uma grande diversidade morfológica de tricomas,
16 principalmente nas pétalas (Tabela 4). No palato, os tricomas tectores são sugeridos como
17 pistas táteis a polinizadores, enquanto que os localizados no cálcio proporcionam uma
18 superfície hidrofóbica na qual podem-se acumular micro gotas de néctar (Płachno *et al.*
19 2018b). Em espécies basais, tricomas tectores ricos em cromoplastos bloqueiam a entrada
20 do cálcio e são sugeridos como característica que impede o acesso de visitantes ilegítimos
21 ao recurso, ao mesmo tempo que podem ser atrativos táteis e visuais a polinizadores
22 (ainda não descritos para as espécies estudadas) (Płachno *et al.* 2019b). Em algumas
23 espécies, tricomas glandulares no palato apresentam lipídeos (Płachno *et al.* 2016, 2017b,
24 2017a).

1 Baseado em observações anatômicas e ultra-estruturais é proposta a secreção de
2 néctar de um modo écrino em *Utricularia* a partir dos tricomas glandulares presentes no
3 cálcar (Płachno *et al.* 2018b). Tais tricomas nectários apresentam morfologia semelhante,
4 no entanto, podem variar quanto à posição na parte interna do cálcar (abaxial ou adaxial)
5 entre as espécies estudadas (Płachno *et al.* 2018b, 2019b). Nos estudos realizados até o
6 momento, não foi possível relacionar as diferentes posições dos tricomas nectários com
7 os polinizadores, devido à falta de observações de visitantes florais nestas espécies.

8

9 **Recursos**

10 Nesta categoria *Pinguicula* foi o gênero mais abrangido. O néctar foi o único
11 recurso estudado embora o pólen e exsudatos de estigmas sejam mencionados como
12 recursos buscados por Diptera na família (Hobbhahn *et al.* 2006; Müller 1881; Dolsan *et*
13 *al.* em prep.).

14

15 *Pinguicula*

16 Em análises do néctar com flores previamente isoladas, o volume de néctar inicial
17 teve Md = 0,28 μ L, concentração de açúcares Md = 9,20%, quantidade de açúcares Md
18 = 0,14 mg (Tabela 5; E1). Destes estudos, dois observaram polinizadores, onde o baixo
19 volume de néctar é relacionado às poucas visitas observadas (Zamora 1999).

20 Um estudo avaliou a concentração e composição do néctar disponível em espécies
21 de jardins botânicos e de uma espécie em campo. Neste estudo, a concentração de
22 açúcares teve Md = 9,14%, é notável a elevada concentração de açúcares da espécie
23 analisada em campo (*P. leptoceras* = 26,24 %;) em comparação com as demais (Tabela
24 5; E2).

1 Quanto a composição do néctar, em duas espécies há predominância de sacarose,
2 em uma há a predominância de hexoses (glicose + frutose) e em duas o néctar é rico em
3 hexoses. Dois estudos registram a presença de néctar em outras espécies de *Pinguicula*,
4 no entanto sem análises (Tabela 5; E3).

5

6 *Utricularia*

7 O volume de néctar em flores previamente isoladas, analisado apenas em uma
8 espécie, foi baixo (0,05 µL) com quantidade de açúcares variável entre os indivíduos (0
9 a 0,20 mg) (Tabela 5; E1).

10 O néctar disponível, analisado nas demais espécies, teve volume Md = 0,25 µL,
11 concentração de açúcares Md = 45,7 % e quantidade de açúcares Md = 0,024 mg. Com
12 exceção de *U. alpina*, o néctar é predominado por hexoses em quantidades semelhantes
13 de glicose e frutose nas demais espécies, e rico em hexose em *U. menziesii*. Um estudo
14 detectou a presença de aminoácidos, determinada comparando a amostra com uma escala
15 de histidina (Tabela 5; E2).

16 O néctar teve volume mínimo e concentração máxima ao meio dia quando
17 analisado a cada hora, durante o dia, enquanto que a quantidade de açúcares permaneceu
18 constante entre as espécies estudadas (Hobbhahn *et al.* 2006). Chaudhary *et al.* (2018)
19 mostraram que a produção do néctar se inicia antes da antese, com pico no dia da abertura
20 da corola e diminuição brusca em três dias, produzido em pequenas quantidades, e não
21 reabastecido, em *U. babui*.

22 Em espécies com floração em massa pode haver bimodalidade quanto à produção
23 de néctar, observada tanto nas espécies a nível populacional quanto em plantas no nível

1 individual, sendo que a proporção de flores sem néctar foi maior em manchas de maior
2 densidade (Hobbhahn *et al.* 2006; Anand *et al.* 2007).

3 Dos estudos que observaram polinizadores, é relacionada as altas concentrações
4 de açúcares do néctar com a polinização por abelhas, porém moscas e borboletas também
5 podem polinizar tais espécies (Hobbhahn *et al.* 2006; Chaudhary *et al.* 2018). Outros
6 estudos registraram a presença de néctar em mais espécies de *Utricularia*, do qual ainda
7 não foi analisado (Tabela 5; E3).

8

9 **Características florais e polinizadores**

10 A partir das inter-relações levantadas observamos que não necessariamente
11 visitantes florais atuam como polinizadores eficazes (Tabela S3; Fig. 4). No entanto,
12 devido ao baixo número de informações disponíveis não foi possível inferir
13 estatisticamente se há diferenças entre os aspectos florais: tipo da corola (Fig. 4A), cor da
14 corola (Fig. 4B), reflectância UV (Fig. 4C) e grupos de visitantes e polinizadores eficazes
15 (Tabelas S5, S6, S7).

16

17 **Evolução de características florais e flor plesiomórfica de Lentibulariaceae**

18 A reconstrução do caráter ancestral por Máxima Verossimilhança (ML), sugere
19 que os sistemas reprodutivos predominantemente alógamo (48%) e misto (46%) são
20 caracteres plesiomórficos em Lentibulariaceae, enquanto o sistema autógamo é derivado,
21 uma sinapomorfia de *Utricularia*. Observamos que sistemas mistos são o caráter
22 plesiomórfico nos clados *Genlisea-Utricularia* (45%) e *Utricularia* (89%) (Fig. S1A). O
23 caráter ancestral de dicogamia não foi resolvido (Fig. S1B).

1 Há a probabilidade de 67% de que a presença de hercogamia (de aproximação)
2 seja plesiomórfica na família, da qual, é partilhado como caráter ancestral, a hercogamia
3 de movimento (95%), enquanto que a temporária é derivada (Fig. S2A-b). Observamos
4 nesta filogenia publicada para Lentibulariaceae que a hercogamia temporária surgiu
5 apenas uma vez para *Utricularia* (*U. cornuta* e *U. juncea*). No entanto, outras espécies
6 não amostradas apresentam tal característica no gênero e são distantes filogeneticamente
7 (Chaudhary *et al.* 2018). Esta característica também surge independentemente em *P.*
8 *alpina* e *P. vulgaris* (que também apresenta hercogamia de movimento). Assim, a
9 hercogamia temporária representa uma homoplasia, tendo surgido independentemente
10 nos gêneros *Pinguicula* e *Utricularia* e (Fig. S2B).

11 Corolas de coloração roxa/lilás são ancestrais na família (93%) e no clado
12 *Genlisea-Utricularia* (98%), do qual, corolas amarelas surgiram independentemente entre
13 os gêneros (Fig. S3A). São condições plesiomórficas, corolas UV absorventes (98%),
14 enquanto a reflexão UV aparece como um caráter derivado, e padrões *bullseye* como
15 homoplasias (Fig. S3B). A presença de odor foi determinada como caráter plesiomórfico
16 (100%) (Fig. S4A). Quanto ao recurso, a presença de néctar é um caráter plesiomórfico
17 (99%) (figura não apresentada), com maior probabilidade de ser dominante em hexose
18 (71%) em *Utricularia* (Fig. S4B).

19 O tipo de corola personada fechada é ancestral em Lentibulariaceae (56%) e no
20 clado *Genlisea-Utricularia* (96%), da qual derivam as corolas tubular, tubular com palato
21 alongado em *Pinguicula*. A corola hipocrateriforme também deriva da personada fechada
22 e é uma autapomorfia de *Genlisea* subg. *Tayloria*. As corolas personadas abertas e com
23 palato que forma uma invaginação são exclusivas de *Utricularia*, derivam da corola
24 personada fechada e são homoplasias, pois ocorrem independentemente em diferentes
25 linhagens (Fig. 5).

1 Desta forma, propomos que a flor plesiomórfica de Lentibulariaceae era alógama,
2 possuía hercogamia de aproximação e de movimento. Apresentava corola personada
3 fechada, roxa/lilás UV absorvente com presença de odor, e produção de néctar dominante
4 em hexose.

5

6 **DISCUSSÃO**

7 **Polinizadores**

8 Em Lentibulariaceae a polinização por diferentes grupos taxonômicos pode
9 ocorrer, mesmo em espécies com alta dependência de polinizadores, diferindo de estudos
10 que avaliaram esta condição (Rosas-Guerrero *et al.* 2014). Em *Genlisea*, por exemplo,
11 abelhas são principais polinizadoras, porém, sirfídeos também são vetores de pólen
12 (Aranguren *et al.* 2018), contradizendo ainda, a predição de Lepidoptera como
13 polinizador em relação à forma hipocrateriforme da corola (Fleischmann, 2012).

14 Portanto, em Lentibulariaceae deduzir o polinizador baseado em poucos traços
15 florais sem estudos empíricos pode tornar as previsões de síndrome de polinização não
16 confiáveis, como ocorre em outras famílias (Ollerton *et al.* 2009). Corolas personadas
17 roxas, com odor e produção de néctar são atrativas a abelhas e plesiomórficas na família.
18 Assim, é possível que os polinizadores mais eficazes sejam abelhas que podem estar em
19 declínio devido à antropização de locais onde as espécies ocorrem (Hobbhahn *et al.* 2006;
20 Aranguren *et al.* 2018)

21 A previsão de polinizadores por meio de características qualitativas simples (como
22 forma, simetria, cor, odor e produção de néctar) pode não ser assertiva e abordagens mais
23 específicas, com maior número de características florais e das relações ecológicas dos

1 visitantes podem ser agregadas em síndromes próprias para o sistema de estudo (Dellinger
2 *et al.* 2019; Dellinger 2020). Medidas mais confiáveis, como a avaliação da performance
3 dos polinizadores (Rosas-Guerrero *et al.* 2014) e o registro mais detalhado e inclusivo de
4 atributos florais, podem diferenciar as síndromes de polinização com maior precisão,
5 além de colaborar com mais informações evolutivas (Abrahamczyk *et al.* 2017a).

6 Como atributos florais observamos que a abertura da corola pode ser um aspecto
7 importante em polinização por Diptera de probóscide curta, que pode não ter peso ou
8 força suficiente para conseguir acesso ao recurso em corolas oclusas pelo palato. Corolas
9 abertas em *Utricularia* ocorrem em espécies de hábitat aquático (aquáticas e aquáticas-
10 reofíticas), destas, *U. vulgaris* e *U. neottioides* estão distantes filogeneticamente e têm
11 somente Diptera confirmados como polinizadores (Plachno *et al.* 2018, Dolsan *et al.* em
12 prep.). De forma que, o acesso facilitado ao recurso pode ser uma característica
13 convergente à polinização por Diptera em *Utricularia*.

14 Contudo, existem polinizadores eficazes que conseguem acesso ao recurso
15 inserindo suas probóscides sem abaixar o palato em corolas fechadas, como Diptera
16 (probóscides longas e curtas) e Lepidoptera em *Utricularia* (Hobbhahn *et al.* 2006;
17 Chaudhary *et al.* 2018). Isso ocorre, em razão de que nestas espécies o espaço interno
18 entre os órgãos reprodutivos e o lábio inferior da corola é mais estreito, possibilitando
19 que as probóscides transfiram pólen. Este espaço também pode ser estreito em algumas
20 flores tubulares de *Pinguicula*, característica que possibilita que Lepidoptera seja
21 polinizadora (*e.g.* Villegas & Alcalá 2018).

22 O espaço existente entre os órgãos reprodutivos e lábio inferior da corola diverge
23 entre as espécies de Lentibulariaceae, visto que visitantes de probóscides longas não são
24 polinizadores em outras espécies (Müller 1881; Aranguren *et al.* 2018; Chaudhary *et al.*

1 2018) Rodrigues *et al.* em prep.). Outro exemplo neste contexto, é Diptera (Syrphidae),
2 polinizador em *U. vulgaris* e não uma abelha menor (*Lasioglossum*) que também visitou
3 a espécie (Płachno *et al.* 2018b).

4 Desta forma, consideramos a dimensão do espaço entre os órgãos reprodutivos e
5 o lábio inferior da corola característica floral importante ao maior entendimento do ajuste
6 planta-polinizador em Lentibulariaceae. Tal característica quando confrontada com a
7 dimensão dos visitantes e explorada com uso da morfometria dimensional ou
8 tridimensional, pode trazer uma abordagem mais preditiva quanto aos grupos de
9 polinizadores (Reich *et al.* 2020).

10

11 **Adaptações do sistema reprodutivo**

12 Podemos generalizar que em Lentibulariaceae o sistema reprodutivo alógamo é
13 primitivo enquanto que o autógamo é derivado, como proposto por Jérémie (1989).
14 Transições da alogamia para a autogamia são recorrentes no reino vegetal devido à
15 segurança reprodutiva na falta de polinizadores (Baker 1955; Kamran-Disfani & Agrawal
16 2014) e podem estar ocorrendo em Lentibulariaceae.

17 A autogamia é comum em diferentes gêneros de plantas carnívoras (Jürgens *et al.*
18 2012; Salces-Castellano *et al.* 2016). Apesar de diminuir o *pool* gênico, diminuindo a
19 capacidade de adaptação a mudanças (Stebbins 1957; Kamran-Disfani & Agrawal 2014),
20 a autogamia pode tornar uma espécie geneticamente isolada, de forma que, esta, mais
21 homozigótica, adquire características adaptativas a nichos ecológicos específicos (Lloyd
22 1965) e pode colonizar novos biótopos a partir de uma única semente (Baker 1955). Uma
23 adaptação importante a plantas carnívoras que são restritas a habitats inférteis, úmidos e
24 abertos, com níveis extremamente baixos de nutrientes (Ellison & Adamec 2018).

1 Em Lentibulariaceae observamos que características que favorecem a
2 autopolinização como a ausência de hercogamia e hercogamia temporária são derivadas
3 na família. A hercogamia temporária permite a autopolinização tardia na ausência de
4 polinizadores eficazes, ou seja, pode ser o "o melhor de dois mundos" para espécies
5 autocompatíveis (Kerner von Marilaun & Oliver 1895; Lloyd 1992; Goodwillie & Weber
6 2018). Em contrapartida, a hercogamia de movimento é uma adequação à alta frequência
7 de visitas florais, pois diminui as chances de geitonogamia e previne a autopolinização
8 mediada por polinizadores (Newcombe 1922; Webb & Lloyd 1986; Chaudhary *et al.*
9 2018). A hercogamia de movimento é plesiomórfica em Lentibulariaceae, como proposto
10 por Jérémie (1989) para *Utricularia* e se mantém em várias espécies.

11 De forma geral, a hercogamia pode evoluir rapidamente em resposta a novas
12 pressões de seleção proporcionando resiliência dos sistemas reprodutivos em caso de
13 mudanças nas comunidades polinizadores (Opedal *et al.* 2017; Opedal 2018, 2019).
14 Assim, divergências entre os estudos em relação aos tipos de hercogamia que ocorrem
15 em Lentibulariaceae podem estar refletindo adaptações de populações distintas a
16 diferentes condições ambientais, como a ausência de polinizadores adequados.

17 As baixas razões de P/O encontradas geralmente relacionadas a flores
18 cleistógamas, fazem sentido neste cenário em que há mecanismos de polinização
19 altamente eficazes (Cruden 1977, 2000), seja devido à transferência eficaz de pólen por
20 vetores de polinização (*e.g.* Hobbhahn *et al.* 2006) ou em espécies em que ocorre a
21 autopolinização tardia devido à hercogamia temporária (*e.g.* Chaudhary *et al.* 2018).

22 Além disso, a cleistogamia, que pode representar adaptação a mudanças
23 ambientais desfavoráveis ou falta de polinizadores, é registrada em espécies de
24 *Utricularia* (Jérémie, 1989; Killian, 1951; Kondo, 1972; Yamamoto & Kadono, 1990) e
25 *Pinguicula* (Pushkareva *et al.* 2018). Outras adaptações do sistema reprodutivo são a

1 longa receptividade estigmática e a alta viabilidade polínica, que possibilitam uma janela
2 temporal maior na qual pode haver polinização cruzada.

3 Assim, em Lentibulariaceae existem adaptações recentes do sistema reprodutivo
4 que favorecem a autopolinização, porém são mantidas adaptações que promovem
5 polinização cruzada de forma a manter o fluxo gênico e a probabilidade de sucesso
6 reprodutivo na família.

7

8 **Atrativos florais**

9 A cor da corola tem sido relatada como a característica floral mais enganosa na
10 predição de polinizadores (Dellinger 2020) e deve ser tratada com cautela em
11 Lentibulariaceae uma vez que não há até o momento, agrupamento desta característica
12 com táxons específicos de polinizadores. Por outro lado, observamos que a reflectância
13 da corola pode ser informativa, visto que, os padrões de cores são percebidos pelos
14 polinizadores na família (Bergamo *et al.* 2021; Dolsan *et al.* em prep.; Rodrigues *et al.*
15 em prep.) inclusive quanto ao comportamento inato de polinizadores frente à reflectância
16 UV.

17 Em *U. vulgaris* ocorre um tipo específico de guias florais que mimetizam anteras
18 (Lunau 2006). Estas geralmente ocorrem em flores bilabiadas de forma que o lábio
19 inferior é protuberante amarelo e UV absorvente, fechando o tubo floral (Lunau *et al.*
20 2017). Sirfídeos *Eristalis tenax* respondem a este padrão com um reflexo inato de
21 projeção da probóscide (Lunau & Wacht 1994) e são polinizadores da espécie (Plachno
22 *et al.* 2018).

23 Padrões florais de UV também podem favorecer a atração das abelhas (Klomberg
24 *et al.* 2019; Tunes *et al.* 2021). Flores amarelas são comuns entre plantas polinizadas por

1 abelhas, que por serem coletoras de pólen, respondem inatamente à cores amarelas UV
2 absorventes (como o pólen) e fazem contato antenal preferencialmente na área de
3 absorção UV (Papiorek *et al.* 2016). Flores amarelas e UV absorventes evoluíram
4 independentemente várias vezes em angiospermas (Lunau *et al.* 2017). Em
5 Lentibulariaceae observamos a ocorrência desta característica em *U. triloba* (Tunes *et al.*
6 2021), *U. subulata* (Mues, 2020) e no gênero *Genlisea* (Burr *et al.* 1995), ainda sem
7 observação de polinizadores.

8 Em *P. alpina*, de corola branca, um padrão de absorção UV é observado nas guias
9 florais amarelas consideradas mimetizadoras de pólen (Lunau 2006). Nesta espécie foram
10 registradas visitas legítimas de moscas e abelhas (Müller 1881; Molau 1993; Nordin
11 2015), de forma que as guias podem ser atrativas para os dois grupos taxonômicos. Guias
12 florais são uma característica importante que direcionam os visitantes para áreas da flor,
13 facilitando o acesso ao recurso floral e/ou transferência de pólen (Lunau *et al.* 1996).

14 Corolas e seus padrões florais em Lentibulariaceae carecem de análises de
15 reflectância, e mais ainda da observação conjunta do comportamento e percepção dos
16 polinizadores. A reflectância da corola pode estar associada a mudanças de polinizadores
17 (Martínez-Harms *et al.* 2020) e, portanto, deve ser mais estudada como atrativo floral na
18 família.

19

20 **Diversidade de tricomas florais**

21 Tricomas e papilas em Lentibulariaceae são considerados possíveis pistas táteis
22 aos polinizadores. As células cônicas encontradas na família podem conferir maior
23 intensidade de cor e cintilância das pétalas, aumentar a aderência do polinizador e
24 diminuir a permeabilidade, características atrativas a polinizadores (Cavallini-Speisser *et*

1 *al.* 2021) e associadas à polinização por abelhas (Papiorek *et al.* 2014; Dellinger *et al.*
2 2019). Células cônicas são encontradas em *Utricularia* polinizadas por abelhas (Menezes
3 2015; Rodrigues *et al.* em prep.) e também em espécie polinizada por pássaro (Płachno
4 *et al.* 2019). Desta forma, é sugerido que a espécie polinizada por pássaro, adaptou-se a
5 partir de uma linhagem plesiomórfica de espécies polinizadas por abelhas (Płachno *et al.*
6 2019).

7 Algumas espécies de *Pinguicula* apresentam independentemente a presença de
8 palato alongado rico em tricomas amarelo a esverdeado. Estes tricomas são considerados
9 uma possível estrutura mimetizadora de anteras/pólen devido à observação de florivoria
10 por Syrphidae (Fleischmann 2016). Nestes tipos florais são registradas abelhas como
11 visitantes legítimos (Molano-Flores *et al.* 2018).

12 Devido aos comportamentos de florivoria observados em algumas espécies na
13 família, tricomas proeminentes presentes nas entradas das flores são sugeridos como
14 recurso (Molano-Flores *et al.* 2018; Aranguren *et al.* 2018; Dolsan *et al.* em prep.).
15 Recentemente foi encontrado amido em tricomas de algumas espécies de *Pinguicula*
16 polinizadas por moscas e abelhas (Lustofin *et al.*, 2020b). Tricomas de espécies de
17 *Utricularia* (subg. *Polypompholyx*) também foram analisados, porém, não continham
18 amido (Płachno *et al.*, 2019a). Tricomas nas entradas das flores de Lentibulariaceae
19 também são interpretados como medidas contra ladrões de néctar ao forçar que o visitante
20 floral tenha um tamanho específico ou passe mais tempo na flor, aumentando a
21 probabilidade de tocar as estruturas reprodutivas (*e.g.* *Pinguicula alpina*) (Faegri & van
22 der Pijl 1966).

23 Alguns estudos indicam ainda, que tricomas que contém lipídeos presentes na
24 corola e palato possivelmente possam atuar como osmóforos (Płachno *et al.* 2016, 2017b,
25 2018a). No entanto, colorações histoquímicas que identifiquem osmóforos são

1 dificultadas devido à natureza hidrofóbica da corola (Clivati *et al.*, 2014; Płachno *et al.*
2 2017).

3 De maneira geral, amido e lipídeos são conteúdos citoplasmáticos dinâmicos,
4 presente em maior ou menor quantidade em glândulas florais de acordo com o tempo de
5 vida da flor e/ou condições ambientais. A própria reserva de energia para o processo
6 secretor de lipídeos pode ser encontrada em forma de grãos de amido nas pétalas (Tölke
7 *et al.* 2020). Visto que não há informações sobre os conteúdos citoplasmáticos das pétalas
8 em situações diversas (como durante a antese), mais estudos são necessários para entender
9 as diversas funções propostas para alguns tricomas, além da relação dos tipos de tricomas
10 com os polinizadores e inferência de como estes podem ter evoluído na família.

11

12 **Recursos**

13 Em Lentibulariaceae a baixa produção de néctar associada às papilas e tricomas
14 presentes no cálcara, faz com que este seja encontrado em gotículas. Característica que
15 pode ser vantajosa, pois força os visitantes a sondarem a superfície do cálcara. Esses
16 movimentos adicionais podem aumentar a probabilidade de remoção e de deposição de
17 pólen (Hobbhahn *et al.* 2006).

18 Também pode conferir vantagem às espécies, a bimodalidade na produção de
19 néctar, encontrada em *Utricularia*. Neste contexto, polinizadores visitam mais flores para
20 obter o recurso necessário, o que aumenta a probabilidade de polinização cruzada, caso
21 essas flores sejam de plantas diferentes (Hobbhahn *et al.* 2006; Anand *et al.* 2007).
22 Quando o recurso não é visível a abelhas, como ocorre em Lentibulariaceae, estas confiam
23 na honestidade da propaganda, de forma que características de anúncio floral são mais

1 fortemente selecionadas que a própria presença/quantidade de recurso (Armbruster *et al.*
2 2005; Bolstad *et al.* 2010).

3 A baixa produção de néctar, assim como sua ausência, pode ocorrer como
4 consequência da limitação de recursos, visto que em *Utricularia* há uma diminuição
5 drástica da superfície foliar no período de floração (Killian 1953). Tal hipótese é
6 sustentada quando observamos maiores volumes de néctar em *U. menziesii* (Tabela S6),
7 que possui tubérculos que armazenam carboidratos, concomitantes ao período de floração
8 (Płachno *et al.* 2020).

9 Apesar do baixo volume, alguns estudos mostram alta concentração de açúcares,
10 porém, ainda não há consenso se tanto as altas concentrações, quanto as diferentes
11 quantidades de açúcares (frutose, sacarose, glicose) predizem polinizadores na família
12 (Hobbhahn *et al.* 2006; Płachno *et al.* 2019; Lustofin, *et al.* 2020a).

13 Estão de acordo com as predições de polinizadores quanto às quantidades de
14 açúcares no néctar (Baker & Baker 1990): *U. menziesii*, rico em hexoses e polinizada por
15 pássaros; *U. multifida*, rico em hexoses, pequenas abelhas são visitantes florais. E
16 contradizendo às mesmas: *P. alpina*, néctar dominado por sacarose e polinizada por
17 moscas e pequenas abelhas; *U. reniformis*, néctar dominado por hexoses, polinizada por
18 abelhas grandes. Desta forma, análises que incluam maiores amostragens de indivíduos,
19 acompanhamento da produção de néctar durante a antese e em situações ambientais
20 diversas são necessárias para maior compreensão da dinâmica do néctar na família.

21

22

23

1 **PRINCIPAIS PADRÕES ENCONTRADOS**

2 A partir das informações levantadas e análises realizadas nesta revisão
3 sistemática, observamos que diversos táxons podem polinizar Lentibulariaceae. O
4 polinizador adequado deve ter dimensões suficientes, de forma que, o espaço entre o lábio
5 inferior da corola e os órgãos reprodutivos (variável entre as espécies) é uma importante
6 dimensão ao encaixe planta-polinizador e consequente sucesso da polinização.

7 Possivelmente nesta família o ancestral era alógamo e autocompatível, com
8 características associadas à melitofilia e polinização cruzada. Características que
9 promovem autofecundação, como a hercogamia temporária, são recentes e corroboram
10 uma possível mudança de alogamia para autogamia. Adaptações do sistema reprodutivo
11 que promovam a autogamia podem ter evoluído como respostas a perturbações
12 ambientais.

13 O déficit de análises da performance do polinizador impossibilitou estabelecermos
14 relações significativas entre polinizadores e características florais, muito provavelmente
15 devido à algumas dificuldades metodológicas (expostas abaixo). Esperamos que esta
16 revisão auxilie trabalhos na área de biologia da polinização em Lentibulariaceae, assim
17 também, expomos direções promissoras à futuras pesquisas.

18

19 **Lacunas metodológicas**

20 Incongruências em estudos com as mesmas espécies demonstram que há lacunas
21 metodológicas em biologia reprodutiva na família. Metodologias necessárias como o
22 acompanhamento da antese são escassas em todas as categorias levantadas nesta revisão.

1 Os eventos durante a antese foram pouco estudados em relação ao tempo de
2 funcionalidade, ou mudança de posição das estruturas reprodutivas. Desta forma, a
3 ausência de hercogamia relatada em algumas espécies, pode ser o resultado final da
4 hercogamia temporária. Tanto a antese, quanto a hercogamia e dicogamia foram
5 negligenciadas na maioria dos estudos.

6 Lacunas metodológicas também surgiram devido às dificuldades relatadas pelos
7 autores, dentre elas, o tamanho diminuto da corola que dificulta a realização de
8 experimentos com o sistema reprodutivo, uma vez que a emasculação pode levar à
9 contaminação ou destruição dos botões (Hobbhahn *et al.* 2006, Chaudhary *et al.* 2018,
10 Dolsan *et al.* em prep.). Nesses experimentos o isolamento também deve ser feito com
11 cautela devido ao surgimento de insetos do solo como Diptera (Hobbhahn *et al.* 2006),
12 noctuídeos (Chaudhary *et al.* 2018) e abelhas solitárias (Rodrigues *et al.* em prep.).
13 Experimentos também podem ser prejudicados em *Pinguicula* devido à contaminação por
14 fungos nas anteras (Nordin, 2015).

15 A raridade da floração em massa (Taylor 1989) dificulta grandes amostragens e,
16 conseqüentemente, diminui o número de visitantes florais (Clivati *et al.* 2014, Chaudhary
17 *et al.* 2018), o que impossibilita a realização de experimentos específicos de desempenho
18 de polinizadores, como a avaliação da deposição de pólen no estigma em flores nunca
19 visitadas (Ne'eman *et al.* 2009). Outras dificuldades são a localização de manchas
20 populacionais devido à alta especificidade de hábitats e a sazonalidade marcada da
21 floração de certas espécies (Taylor 1989; obs. pess.). Observações noturnas são
22 negligenciadas, porém, quando realizadas, mostraram visitantes crepusculares em
23 espécies melitófilas (Hobbhahn *et al.* 2006) e noturnos em espécies miófilas (Dolsan *et*
24 *al.* em prep.).

1 Devido ao fato de o néctar em Lentibulariaceae ser produzido em pequenas
2 quantidades e não se acumular na parte inferior do cálcio, a coleta para análise e medições
3 precisas do volume são dificultadas (Anand *et al.* 2007). Incongruências são encontradas
4 quanto à produção de néctar em *U. alpina* (Jérémie 1989; Abrahamczyk *et al.* 2017b), da
5 qual pode estar refletindo a falta de acompanhamento da produção de néctar durante a
6 antese.

7

8 **Direções futuras**

9 Visto que Lentibulariaceae é uma família pouco estudada quanto à biologia
10 reprodutiva e da polinização, apontamos pontos promissores a serem explorados em
11 futuros trabalhos:

12 *Polinizadores*

- 13 • A legitimidade das visitas e, principalmente a análise da performance dos
14 polinizadores são imprescindíveis, pois dificultam o entendimento das relações
15 entre polinizadores e tipos florais.
- 16 • A morfometria do espaço entre os órgãos reprodutivos e o lábio inferior da corola
17 deve ser explorada como característica importante à compreensão do ajuste
18 planta-polinizador. Assim como, a morfometria dos visitantes comparada a da flor
19 pode ajudar a responder sobre a legitimidade e eficácia dos polinizadores.
- 20 • Estudos que agreguem informações de polinizadores e atributos florais são
21 necessários.
- 22 • Observações de polinizadores em diversas estações do ano são escassas.

23

1 *Sistema reprodutivo*

- 2 • O acompanhamento da antese durante a vida da flor com foco nas alterações da
3 hercogamia é imprescindível, pois tais mudanças afetam diretamente o sistema
4 reprodutivo.
- 5 • Estudos do sistema reprodutivo devem incluir mais testes empíricos, de forma a
6 colaborem com o entendimento não apenas do tipo de sistema reprodutivo
7 (autopolinização manual; polinização cruzada), mas também com a dependência
8 de polinizadores (autopolinização espontânea; controle em campo).
- 9 • O uso de abordagem assistida por marcadores moleculares pode medir a extensão
10 da depressão por endogamia e mostrar se a autofecundação tardia é de fato o
11 melhor dos dois mundos para essas espécies. Além de poder elucidar os níveis de
12 clonalidade e geitonogamia em uma população e auxiliar na pesquisa de
13 conservação preventiva, especialmente em grandes populações devido à sua
14 raridade.

15

16 *Atrativos, tricomas e recursos florais*

- 17 • A reflectância floral em conjunto com a percepção e comportamento de
18 polinizadores pode ser promissora à predição de polinizadores.
- 19 • Extração e análise de voláteis florais deve ser mais explorada, visto que é relatada
20 a presença de odor em algumas espécies.
- 21 • Análises de tricomas presentes no palato, visto os casos de florivoria na família.
- 22 • Análises e acompanhamento da produção de néctar durante a antese são
23 recomendados para se compreender completamente o modo de secreção do néctar
24 nos gêneros.

25

REFERÊNCIAS

- Abrahamczyk S., Kessler M., Hanley D., Karger D.N., Müller M.P.J., Knauer A.C., Keller F., Schwerdtfeger M., Humphreys A.M. (2017b) Pollinator adaptation and the evolution of floral nectar sugar composition. *Journal of Evolutionary Biology* **30**:112–127.
- Abrahamczyk S., Lozada-Gobilard S., Ackermann M., Fischer E., Krieger V., Redling A., Weigend M. (2017a) A question of data quality—Testing pollination syndromes in Balsaminaceae (C. Li, Ed.). *PLOS ONE* **12**:e0186125.
- Albert V.A., Jobson R.W., Michael T.P., Taylor D.J. (2010) The carnivorous bladderwort (*Utricularia*, Lentibulariaceae): a system inflates. *Journal of Experimental Botany* **61**:5–9.
- Anand C., Umranikar C., Shintre P., Damle A., Kale J., Joshi J., Watve M. (2007) Presence of two types of flowers with respect to nectar sugar in two gregariously flowering species. *Journal of Biosciences* **32**:769–774.
- Aranguren Y., Płachno B.J., Stpiczyńska M., Miranda V.F.O. (2018) Reproductive biology and pollination of the carnivorous *Genlisea violacea* (Lentibulariaceae) (A. Dafni, Ed.). *Plant Biology* **20**:591–601.
- Armbruster W.S., Antonsen L., Pélabon C. (2005) Phenotypic Selection on *Dalechampia* Blossoms: Honest Signaling Affects Pollination Success. *Ecology* **86**:3323–3333.
- Ashworth L., Aguilar R., Martín-Rodríguez S., Lopezaraiza-Mikel M., Avila-Sakar G., Rosas-Guerrero V., Quesada M. (2015) Pollination Syndromes: A Global Pattern of Convergent Evolution Driven by the Most Effective Pollinator. In: Pontarotti P (ed) *Evolutionary Biology: Biodiversification from Genotype to Phenotype*. Springer International Publishing, Cham, pp 203–224. [online] URL: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-19932-0_11 (accessed 22 May 2021).
- Baker H.G. (1955) Self-Compatibility and Establishment After “Long-Distance” Dispersal. *Evolution* **9**:347–349.
- Baker H.G., Baker I. (1990) The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinator types. *Israel Journal of Plant Sciences* **39**:157–166.
- Bergamo P.J., Streher N.S., Zambon V., Wolowski M., Sazima M. (2021) Pollination generalization and reproductive assurance by selfing in a tropical montane ecosystem. *The Science of Nature* **108**:50.
- Bolstad G.H., Armbruster W.S., Pélabon C., Pérez-Barrales R., Hansen T.F. (2010) Direct selection at the blossom level on floral reward by pollinators in a natural population of *Dalechampia schottii*: full-disclosure honesty? *The New Phytologist* **188**:370–384.
- Botelho R.G., de Oliveira C. da C. (2015) Literaturas branca e cinzenta: uma revisão conceitual. *Ciência da Informação* **44**:501–513.

- Bradford J., Beach J., Rogers G. (2020) Small Butterwort (*Pinguicula pumila*) in its natural habitat. **49**:8.
- Burr B., Rosen D., Barthlott W. (1995) Untersuchungen zur Ultraviolettreflexion von Angiospermenblüten. III. Dilleniidae und Asteridae. *Trop Subtrop Pflanzenwelt* **93**:186.
- Carretero-Paulet L., Librado P., Chang T.-H., Ibarra-Laclette E., Herrera-Estrella L., Rozas J., Albert V.A. (2015) High gene family turnover rates and gene space adaptation in the compact genome of the carnivorous plant *Utricularia gibba*. *Molecular Biology and Evolution* **32**:1284–1295.
- Cavallini-Speisser Q., Morel P., Monniaux M. (2021) Petal Cellular Identities. *Frontiers in Plant Science* **12**:2430.
- Chaudhary A., Yadav S.R., Tandon R. (2018) Delayed selfing ensures reproductive assurance in *Utricularia praeterita* and *Utricularia babui* in Western Ghats. *Journal of Plant Research* **131**:599–610.
- Cross A.T., Krueger T.A., Gonella P.M., Robinson A.S., Fleischmann A.S. (2020) Conservation of carnivorous plants in the age of extinction. *Global Ecology and Conservation* **24**:e01272.
- Cruden R.W. (1977) Pollen-Ovule Ratios: A Conservative Indicator of Breeding Systems in Flowering Plants. *Evolution* **31**:32–46.
- Cruden R.W. (2000) Pollen grains: why so many? In: Dafni A, Hesse M, Pacini E (eds) *Pollen and Pollination*. Springer, Vienna, pp 143–165.
- Dellinger A.S. (2020) Pollination syndromes in the 21st century: where do we stand and where may we go? *New Phytologist* **228**:1193–1213.
- Dellinger A.S., Chartier M., Fernández-Fernández D., Penneys D.S., Alvear M., Almeda F., Michelangeli F.A., Staedler Y., Armbruster W.S., Schönenberger J. (2019) Beyond buzz-pollination – departures from an adaptive plateau lead to new pollination syndromes. *New Phytologist* **221**:1136–1149.
- Dolsan *et al.* (em prep.) Pollination ecology of a rheophyte carnivorous species: *Utricularia neottioides* A.St.-Hil. & Girard (Lentibulariaceae).
- Ellison A.M., Adamec L. (2018) *Carnivorous plants: physiology, ecology, and evolution*. Oxford University Press, UK.
- Faegri K., van der Pijl L. (1966) *The principles of pollination ecology*, ix+ 248 pp. Toronto & Oxford:157–159.
- Fenster C.B., Armbruster W.S., Wilson P., Dudash M.R., Thomson J.D. (2004) Pollination Syndromes and Floral Specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **35**:375–403.
- Fetscher A.E., Kohn J.R. (1999) Stigma behavior in *Mimulus aurantiacus* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* **86**:1130–1135.

- Fife D., Fife M.D. (2017) Package ‘fifer.’ A biostatisticians toolbox for various activities, including plotting, data cleanup, and data analysis [online] URL: <https://rdr.io/github/dustinfife/fifer/>
- Fleischmann A. (2012) *Monograph of the genus Genlisea*. Redfern Natural History Productions, Poole, Dorset, England.
- Fleischmann A. (2016) Pinguicula flowers with pollen imitations close at night – some observations on butterwort flower biology. **45**:10.
- Fleischmann A. (2018) Systematics and evolution of Lentibulariaceae: II. *Genlisea*. Carnivorous plants: physiology, ecology and evolution Oxford University Press, Oxford:81–88.
- Fleischmann A., Michael T.P., Rivadavia F., Sousa A., Wang W., Temsch E.M., Greilhuber J., Müller K.F., Heubl G. (2014) Evolution of genome size and chromosome number in the carnivorous plant genus *Genlisea* (Lentibulariaceae), with a new estimate of the minimum genome size in angiosperms. *Annals of botany* **114**:1651–1663.
- Fleischmann A., Rocchia A. (2018) Systematics and evolution of Lentibulariaceae: I. *Pinguicula*. In: Carnivorous Plants. Oxford University Press
- Fleischmann A., Schlauer J., Smith S.A., Givnish T.J., Ellison A., Adamec L. (2018) Evolution of carnivory in angiosperms. Carnivorous plants: physiology, ecology, and evolution:22–42.
- Friedman J., Hart K.S., den Bakker M.C. (2017) Losing one’s touch: Evolution of the touch-sensitive stigma in the *Mimulus guttatus* species complex. *American Journal of Botany* **104**:335–341.
- García M.B., Antor R.J., Villar L. (1994) Phenomorphology and reproductive biology of *Pinguicula longifolia* Ramond ex DC. subsp. *longifolia* (Lentibulariaceae), a carnivorous endemic plant of the Pyrenees. *Acta Botanica Gallica* **141**:343–349.
- Gérard M., Vanderplanck M., Wood T., Michez D. (2020) Global warming and plant–pollinator mismatches. *Emerging topics in life sciences* **4**:77–86.
- Goodwillie C., Kalisz S., Eckert C.G. (2005) The Evolutionary Enigma of Mixed Mating Systems in Plants: Occurrence, Theoretical Explanations, and Empirical Evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**:47–79.
- Goodwillie C., Weber J.J. (2018) The best of both worlds? A review of delayed selfing in flowering plants. *American Journal of Botany* **105**:641–655.
- Greilhuber J., Borsch T., Müller K., Worberg A., Porembski S., Barthlott W. (2006) Smallest angiosperm genomes found in Lentibulariaceae, with chromosomes of bacterial size. *Plant biology* **8**:770–777.
- Gu Z., Gu L., Eils R., Schlesner M., Brors B. (2014) Circlize implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics* **30**:2811–2812.

- Heslop-Harrison Y. (2004) *Pinguicula* L. *Journal of Ecology* **92**:1071–1118.
- Hildebrand F. (1869) Weitere Beobachtungen fiber die Bestäubungsverhldtnisse an Bliithen. *Utricularia vulgaris*. *Bot Zeit* **27**:1869.
- Hobbhahn N., Küchmeister H., Porembski S. (2006) Pollination Biology of Mass Flowering Terrestrial *Utricularia* Species (Lentibulariaceae) in the Indian Western Ghats. *Plant Biology* **8**:791–804.
- Ibarra-Laclette E., Albert V.A., Perez-Torres C.A., Zamudio-Hernandez F., Ortega-Estrada M. de J., Herrera-Estrella A., Herrera-Estrella L. (2011) Transcriptomics and molecular evolutionary rate analysis of the bladderwort (*Utricularia*), a carnivorous plant with a minimal genome. *BMC Plant Biology* **11**
- Jérémie J. (1989) Autogamie dans le genre *Utricularia* L.(Lentibulariaceae). *Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle* Section B, Adansonia **11**:17–28.
- Jobson R.W., Albert V.A. (2002) Molecular Rates Parallel Diversification Contrasts between Carnivorous Plant Sister Lineages 1. *Cladistics* **18**:127–136.
- Jürgens A., Sciligo A., Witt T., El-Sayed A.M., Suckling D.M. (2012) Pollinator-prey conflict in carnivorous plants. *Biological Reviews* **87**:602–615.
- Kamran-Disfani A., Agrawal A.F. (2014) Selfing, adaptation and background selection in finite populations. *Journal of Evolutionary Biology* **27**:1360–1371.
- Kausik S.B., Raju M.V.S. (1955) A contribution to the floral morphology and embryology of *Utricularia reticulata* Smith. In: Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B. Springer, India, pp 155–166.
- Kerner von Marilaun A., Oliver F.W. (1895) *The natural history of plants: their forms, growth, reproduction, and distribution*. Blackie & son, ltd.
- Khosla C., Shivanna K.R., Mohan Ram H.Y. (1998) Pollination in the aquatic insectivore *Utricularia inflexa* var. *stellaris*. *Phytomorphology* **48**:417–425.
- Killian C. (1953) Contribution a l'etude de la biologie de quelques *Utricularia* tropicaux. *Bulletin de l'Institut Francais d'Afrique Noire* **15**:72–82.
- Klomberg Y., Dywou Kouede R., Bartoš M., Mertens J.E.J., Tropek R., Fokam E.B., Janeček Š. (2019) The role of ultraviolet reflectance and pattern in the pollination system of *Hypoxis camerooniana* (Hypoxidaceae). *AoB Plants* **11**:plz057.
- Knuth P. (1898) Handbuch der Blütenbiologie. Unter Zugrundelegung von HERMANN MULLERs Werk:„Die Befruchtung der Blumen durch Insekten“, II. Band. 1. Teil: Ranunculaceae bis Compositae. Leipzig: W Engelmann:570–577.
- Kondo K. (1972) A comparison of variability in *Utricularia cornuta* and *Utricularia juncea*. *American Journal of Botany* **59**:23–37.

- Król E., Płachno B.J., Adamec L., Stolarz M., Dziubińska H., Trębacz K. (2012) Quite a few reasons for calling carnivores ‘the most wonderful plants in the world.’ *Annals of Botany* **109**:47–64.
- Leushkin E.V., Sutormin R.A., Nabieva E.R., Penin A.A., Kondrashov A.S., Logacheva M.D. (2013) The miniature genome of a carnivorous plant *Genlisea aurea* contains a low number of genes and short non-coding sequences. *BMC genomics* **14**:1–11.
- Lloyd D.G. (1965) Evolution of Self-Compatibility and Racial Differentiation in *Leavenworthia* (cruciferae). *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*:3–134.
- Lloyd D.G. (1992) Self- and cross-fertilization in plants. II. The selection of self-fertilization. *International journal of plant sciences* **153**:370–380.
- Lloyd D.G., Schoen D.J. (1992) Self- and Cross-Fertilization in Plants. I. Functional Dimensions. *International Journal of Plant Sciences* **153**:358–369.
- Lord E.M. (1981) Cleistogamy: A tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. *The Botanical Review* **47**:421–449.
- Lunau K. (2006) Stamens and mimic stamens as components of floral colour patterns. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* **127**:13–41.
- Lunau K., Konzmann S., Winter L., Kamphausen V., Ren Z.-X. (2017) Pollen and stamen mimicry: the alpine flora as a case study. *Arthropod-Plant Interactions* **11**:427–447.
- Lunau K., Wacht S. (1994) Optical releasers of the innate proboscis extension in the hoverfly *Eristalis tenax* L. (Syrphidae, Diptera). *Journal of Comparative Physiology A* **174**:575–579.
- Lustofin K., Świątek P., Miranda V.F.O., Płachno B.J. (2020b) Flower nectar trichome structure of carnivorous plants from the genus butterworts *Pinguicula* L. (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **257**:245–259.
- Martínez-Harms J., Hadar R., Márquez N., Menzel R., Shmida A., Stavenga D.G., Vorobyev M. (2020) Enhanced UV-Reflection Facilitated a Shift in the Pollination System of the Red Poppy, *Papaver rhoeas* (Papaveraceae). *Plants* **9**:927.
- Miranda V.F., Silva S.R., Reut M.S., Dolsan H., Stolarczyk P., Rutishauser R., Płachno B.J. (2021) A Historical Perspective of Bladderworts (*Utricularia*): Traps, Carnivory and Body Architecture. *Plants* **10**:2656.
- Molano-Flores B., Primer S., Annis J., Feist M.A., Coons J., Digges R. (2018) Reproductive ecology of three rare North American *Pinguicula* species. *Plant Species Biology* **33**:129–139.

- Molau U. (1993) Reproductive ecology of the three Nordic *Pinguicula* species (Lentibulariaceae). *Nordic Journal of Botany* **13**:149–157.
- Monteiro B.L., Camargo M.G.G., Loiola P.D.P., Carstensen D.W., Gustafsson S., Morellato L.P.C. (2021) Pollination in the *campo rupestre* : a test of hypothesis for an ancient tropical mountain vegetation. *Biological Journal of the Linnean Society*:blaa205.
- Mues A.W. (2020) *Functional Integration of Floral Plant Traits: Shape and Symmetry, Optical Signal, Reward and Reproduction in the Angiosperm Flower*. Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn
- Müller H. (1881) *Alpenblumen, ihre Befruchtung durch Insekten und ihre Anpassungen an dieselben*. W. Engelmann.
- Ne'eman G., Jürgens A., Newstrom-Lloyd L., Potts S.G., Dafni A. (2009) A framework for comparing pollinator performance: effectiveness and efficiency. *Biological Reviews* **85**:435–451.
- Newcombe F.C. (1922) Significance of the behavior of sensitive stigmas. *American Journal of Botany* **9**:99–120.
- Newcombe F.C. (1924) Significance of the behavior of sensitive stigmas II. *American Journal of Botany* **11**:85–93.
- Nordin M. (2015) *Pinguicula alpina* (alpine butterwort) on the Swedish island of Gotland: pollination and reproductive. Thesis, Uppsala University, Disciplinary Domain of Science and Technology, Biology, Biology Education Centre:29.
- Ollerton J., Alarcón R., Waser N.M., Price M.V., Watts S., Cranmer L., Hingston A., Peter C.I., Rotenberry J. (2009) A global test of the pollination syndrome hypothesis. *Annals of Botany* **103**:1471–1480.
- Opedal Ø.H. (2018) Herkogamy, a principal functional trait of plant reproductive biology. *International Journal of Plant Sciences* **179**:677–687.
- Opedal Ø.H. (2019) The evolvability of animal-pollinated flowers: towards predicting adaptation to novel pollinator communities. *New Phytologist* **221**:1128–1135.
- Opedal Ø.H., Bolstad G.H., Hansen T.F., Armbruster W.S., Pélabon C. (2017) The evolvability of herkogamy: Quantifying the evolutionary potential of a composite trait. *Evolution* **71**:1572–1586.
- Papiorek S., Junker R.R., Alves-dos-Santos I., Melo G. a. R., Amaral-Neto L.P., Sazima M., Wolowski M., Freitas L., Lunau K. (2016) Bees, birds and yellow flowers: pollinator-dependent convergent evolution of UV patterns. *Plant Biology* **18**:46–55.
- Papiorek S., Junker R.R., Lunau K. (2014) Gloss, Colour and Grip: Multifunctional Epidermal Cell Shapes in Bee- and Bird-Pollinated Flowers (D. Osorio, Ed.). *PLoS ONE* **9**:e112013.

- Płachno B.J., Silva S.R., Świątek P., Dixon K.W., Lustofin K., Seber G.C., Miranda V.F.O. (2020) Structural Features of Carnivorous Plant (*Genlisea*, *Utricularia*) Tubers as Abiotic Stress Resistance Organs. *International Journal of Molecular Sciences* **21**:5143.
- Płachno B.J., Stpiczyńska M., Adamec L., Miranda V.F.O., Świątek P. (2018b) Nectar trichome structure of aquatic bladderworts from the section *Utricularia* (Lentibulariaceae) with observation of flower visitors and pollinators. *Protoplasma* **255**:1053–1064.
- Płachno B.J., Stpiczyńska M., Adamec L., Oliveira Miranda V.F., Swiatek P. (2018) Nectar trichome structure of aquatic bladderworts from the section *Utricularia* (Lentibulariaceae) with observation of flower visitors and pollinators. *PROTOPLASMA* **255**:1053–1064.
- Płachno B.J., Stpiczyńska M., Davies K.L., Świątek P., de Miranda V.F.O. (2017b) Floral ultrastructure of two Brazilian aquatic-epiphytic bladderworts: *Utricularia cornigera* Studnička and *U. nelumbifolia* Gardner (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **254**:353–366.
- Płachno B.J., Stpiczyńska M., Krajewski Ł., Świątek P., Adamec L., Miranda V.F.O. (2017a) Flower palate structure of the aquatic bladderworts *Utricularia bremii* Heer and *U. minor* L. from section *Utricularia* (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **254**:2007–2015.
- Płachno B.J., Stpiczyńska M., Świątek P., Davies K.L. (2016) Floral micromorphology of the Australian carnivorous bladderwort *Utricularia dunlopiae*, a putative pseudocopulatory species. *Protoplasma* **253**:1463–1473.
- Płachno B.J., Stpiczyńska M., Świątek P., Lambers H., Cawthray G.R., Nge F.J., Silva S.R., Miranda V.F.O. (2019b) Floral micromorphology and nectar composition of the early evolutionary lineage *Utricularia* (subgenus *Polypompholyx*, Lentibulariaceae). *Protoplasma* **256**:1531–1543.
- Płachno B.J., Stpiczyńska M., Świątek P., Lambers H., Miranda V.F.O., Nge F.J., Stolarczyk P., Cawthray G.R. (2019) Floral micromorphology of the bird-pollinated carnivorous plant species *Utricularia menziesii* R.Br. (Lentibulariaceae). *Annals of Botany* **123**:213–220.
- Płachno B.J., Świątek P., Stpiczyńska M., Miranda V.F.O. (2018a) Flower palate ultrastructure of the carnivorous plant *Genlisea hispidula* Stapf with remarks on the structure and function of the palate in the subgenus *Genlisea* (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **255**:1139–1146.
- Pushkareva L.A., Vinogradova G.Y., Titova G.E. (2018) Reproductive biology of *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae) in Leningrad region. *ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ* **103**:1511.
- R Core Team (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>

- Reich D., Berger A., Balthazar M., Chartier M., Sherafati M., Schönenberger J., Manafzadeh S., Staedler Y.M. (2020) Modularity and evolution of flower shape: the role of function, development, and spandrels in *Erica*. *New Phytologist* **226**:267–280.
- Reut M.S., Płachno B.J. (2020) Unusual developmental morphology and anatomy of vegetative organs in *Utricularia dichotoma*—Leaf, shoot and root dynamics. *Protoplasma* **257**:371–390.
- Reut M.S., Płachno B.J. (2022) Development, Diversity and Dynamics of Plant Architecture in *Utricularia* subgenus *Polypompholyx* – Towards Understanding Evolutionary Processes in the Lentibulariaceae. *The Botanical Review*:1–36.
- Richardson A.D., Keenan T.F., Migliavacca M., Ryu Y., Sonnentag O., Toomey M. (2013) Climate change, phenology, and phenological control of vegetation feedbacks to the climate system. *Agricultural and Forest Meteorology* **169**:156–173.
- Rodrigues et al. (em prep.) Sexual reproduction of *Utricularia damazioi* Beauverd (Lentibulariaceae).
- Rosas-Guerrero V., Aguilar R., Martén-Rodríguez S., Ashworth L., Lopezaraiza-Mikel M., Bastida J.M., Quesada M. (2014) A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology letters* **17**:388–400.
- Rutishauser R. (2016) Evolution of unusual morphologies in Lentibulariaceae (bladderworts and allies) and Podostemaceae (river-weeds): a pictorial report at the interface of developmental biology and morphological diversification. *Annals of Botany* **117**:811–832.
- Rutishauser R., Isler B. (2001) Developmental genetics and morphological evolution of flowering plants, especially bladderworts (*Utricularia*): fuzzy Arberian morphology complements classical morphology. *Annals of Botany* **88**:1173–1202.
- Salces-Castellano A., Paniw M., Casimiro-Soriguer R., Ojeda F. (2016) Attract them anyway: benefits of large, showy flowers in a highly autogamous, carnivorous plant species. *AoB PLANTS* **8**:plw017.
- Shimai H., Setoguchi H., Roberts D.L., Sun M. (2021) Biogeographical patterns and speciation of the genus *Pinguicula* (Lentibulariaceae) inferred by phylogenetic analyses. *PLOS ONE* **16**
- Silva S., Gibson R., Adamec L., Domínguez Y., Miranda V.F. (2018) Molecular phylogeny of bladderworts: A wide approach of *Utricularia* (Lentibulariaceae) species relationships based on six plastidial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **118**:244–264.
- Silva S.R., Płachno B.J., Carvalho S.G.M., Miranda V.F.O. (2020) *Genlisea hawkingii* (Lentibulariaceae), a new species from Serra da Canastra, Minas Gerais, Brazil. *PLOS ONE* **15**:e0226337.

- Stebbins G.L. (1957) Self Fertilization and Population Variability in the Higher Plants. *The American Naturalist* **91**:337–354.
- Stebbins G.L. (1970) Adaptive Radiation of Reproductive Characteristics in Angiosperms, I: Pollination Mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* **1**:307–326.
- Taylor P. (1989) The genus *Utricularia*. A taxonomic monograph. Kew Bulletin:1–724.
- Tölke E.D., Capelli N. do V., Pastori T., Alencar A.C., Cole T.C.H., Demarco D. (2020) Diversity of Floral Glands and Their Secretions in Pollinator Attraction. In: Mérillon J-M, Ramawat KG (eds) Co-Evolution of Secondary Metabolites. Springer International Publishing, Cham, pp 709–754.
- Tunes P., Camargo M.G.G., Guimarães E. (2021) Floral UV features of plant species from a Neotropical savanna. *Frontiers in plant science* **12**:618028.
- Veleba A., Bureš P., Adamec L., Šmarda P., Lipnerová I., Horová L. (2014) Genome size and genomic GC content evolution in the miniature genome-sized family Lentibulariaceae. *New Phytologist* **203**:22–28.
- Webb C.J., Lloyd D.G. (1986) The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany* **24**:163–178.
- Wicke S., Schäferhoff B., Depamphilis C.W., Müller K.F. (2014) Disproportional plastome-wide increase of substitution rates and relaxed purifying selection in genes of carnivorous Lentibulariaceae. *Molecular Biology and Evolution* **31**:529–545.
- Willmer P. (2011) *Pollination and Floral Ecology*. Princeton University Press, New Jersey, USA.
- Yamamoto I., Kadono Y. (1990) A study on the reproductive biology of aquatic *Utricularia* species in southwestern Japan. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* **41**:189–200.

TABELAS

Tabela 1. Visitantes florais em Lentibulariaceae (Categoria A). Metodologias aplicadas e visitantes registrados.

Gênero (Categoria)	Referência	Espécie	Legitimidade	Eficácia	Eficiência	Taxonomia	Comportamento	Morfometria	Observação crepuscular/ noturna	Visitantes florais	
Pinguicula (A1)	Molau (1993)	<i>P. alpina</i>	x	x		x				Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	
		<i>P. villosa</i>				x					
		<i>P. vulgaris</i>				x					
Pinguicula (A2)	Villegas & Alcalá (2018)	<i>P. moranensis</i>	x	x		x	x	x		Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	
	Müller (1881)	<i>P. alpina</i>	x			x	x			Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	
		<i>P. vulgaris</i>	x			x	x				
	García et al. (1994)	<i>P. longifolia</i>	x			x				Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	
	Zamora (1999)	<i>P. vallisneriifolia</i>	x			x			x	Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Thysanoptera	
	Nordin (2015)	<i>P. alpina</i>	x			x	x			Diptera, Hymenoptera	
	Molano-Flores et al. (2018)	<i>P. ionantha</i>	x			x					Hymenoptera, Lepidoptera
<i>P. lutea</i>		x			x						
<i>P. planifolia</i>		x			x						
Pinguicula (A3)	Shimai (2018)	<i>P. macroceras</i>	x			x	x			Coleoptera, Diptera	
		<i>P. ramosa</i>	x			x	x				
Pinguicula (A4)	Willis & Burkill (1903)	<i>P. vulgaris</i>				x				Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	
	Zamorra et al. (1996)	<i>P. mundi</i>				x				Diptera, Hymenoptera	
	Dominguez (2012)	<i>P. filifolia</i>				x				Thysanoptera	
		<i>P. albida</i>				x					
		<i>P. cubensis</i>				x					
	Dominguez (2013)	<i>P. filifolia</i>				x				Hymenoptera	
		<i>P. albida</i>				x					
		<i>P. cubensis</i>				x					
	Fleischmann (2016)	<i>P. ionantha</i>						x		Diptera, Hymenoptera	
		<i>P. lutea</i>						x			
<i>P. leptoceras</i>							x				
<i>P. pumila</i>					x						
Bradford & Rogers (2020)						x			Diptera, Hymenoptera		
	Benavente-Romo & Sandoval-Ortega (2021)	<i>P. oblongiloba</i>				x				Diptera, Lepidoptera	
Pinguicula (A5)	Heslop-Harrison (2004)	<i>P. vulgaris</i>								Diptera, Hymenoptera	
		<i>P. grandiflora</i>									
		<i>P. lusitanica</i>									
		<i>P. alpina</i>									
Gentisea (A1)	Aranguren et al. (2018)	<i>G. violacea</i>	x	x	x	x	x	x		Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	
Gentisea (A3)	Fleischmann (2011)	<i>G. stapffi</i>	x			x	x			Hymenoptera	
Gentisea (A4)		<i>G. aurea</i>				x					
Utricularia (A1)	Hobbhahn et al. (2006)	<i>U. albocaerulea</i>	x		x	x	x		x	Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	
		<i>U. graminifolia</i>	x	x	x	x	x		x		
		<i>U. reticulata</i>	x		x	x	x		x		
	Chaudhary et al. (2018)	<i>U. babui</i>	x	x		x	x			Diptera, Hymenoptera	
Rodrigues et al. (em prep.)	<i>U. damazioi</i>	x	x		x	x	x		Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera		
Utricularia (A2)	Clivati et al. (2014)	<i>U. reniformis</i>	x			x	x			Hymenoptera	
Dolsan et al. (em prep.)	<i>U. neottioides</i>	x			x	x	x	x	Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera		
Utricularia (A3)	Plachno et al. (2018b)	<i>U. foliosa</i>	x			x	x			Diptera, Hymenoptera, Hemiptera, Thysanoptera	
		<i>U. vulgaris</i>	x	x		x	x				
Utricularia (A4)	Hensius (1890)	<i>U. vulgaris</i>				x	x			Diptera	
	Killian (1951)	<i>U. striatula</i>								Diptera	
	Keighery (1982)	<i>U. menziesii</i>								Passeriforme	
	Gibson (1997)	<i>U. dichotoma</i>					x	x		Lepidoptera	
	Gibson (1999)	<i>U. multifida</i>					x			Hymenoptera	
	Janarthanam (1999)	<i>U. reticulata</i>								Hymenoptera	
	Proctor, Yeo & Lack (1996)	<i>U. vulgaris</i>								Diptera, Hymenoptera	
	Hingston & Quillan (2000)	<i>U. dichotoma</i>								Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera	
	Salmon (2001)	<i>U. gibba</i>									Hymenoptera, Lepidoptera
		<i>U. dichotoma</i>									
		<i>U. delicatula</i>					x				
	Araki & Kadono (2003)	<i>U. australis</i>								Diptera, Hemiptera	
	Bourke (2005)	<i>U. multifida</i>								Hymenoptera	
	Balachandran et al. (2014)	<i>U. lazulina</i>					x				Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera
		<i>U. reticulata</i>					x				
<i>U. striatula</i>						x					
Menezes (2015)	<i>U. amethystina</i>				x	x	x		Hymenoptera, Lepidoptera		
Plachno et al. (2017b)	<i>U. bremsii</i>				x	x			Hymenoptera		
Plachno et al. (2019b)	<i>U. multifida</i>								Hymenoptera		
Aranguren et al. (2018)	<i>U. triloba</i>				x		x			Diptera	
	<i>U. laciniata</i>				x		x				
Utricularia (A5)	Lowrie (2001)	<i>U. menziesii</i>	x			x	x			Passeriforme	
	Taylor (1989)	<i>U. campbeliana</i>								Passeriforme	

Tabela 2. Sistema reprodutivo em Lentibulariaceae (Categoria B). Dados levantados pelos estudos, sistema reprodutivo e dependência de polinizadores.

Gênero (Categoria)	Referência	Espécie	Agamospermia (n)	Auto manual (n)	Cruzada manual (n)	Auto espontânea (n)	Controle (n)	Sistema reprodutivo	Dependência de vetor de polinização	Hercogamia	Dicogamia	Antese (dias)	SCI	SFI	P/O
<i>Pinguicula</i> (B1)	Molau (1993)	<i>P. alpina</i>				0 (30)			alta	aproximação		~12			800
		<i>P. villosa</i>				82,6% (30)			baixa			~12			130
		<i>P. vulgaris</i>				64,6% (26)			baixa	parcial			~12		
	Zamora et al. (1996)	<i>P. submediterranea</i>		91% (17)	90% (21)	0 (26)		misto	alta	aproximação			1,01	0	
		<i>P. mundi</i>		46,1% (13)	70% (10)	0 (12)		misto	alta	aproximação			0,65	0	
	Zamora (1999)	<i>P. vallisneriifolia</i>		81,5% (30)	95,8% (30)	0 (30)	70, 22% (30)	misto	alta	aproximação		12	0,85	0	
	Villegas & Alcalá (2018)	<i>P. moranensis</i>		250 (10)	~450 (10)	0 (10)	350-400 (10)	predominantemente alógama	alta	aproximação, movimento		9	0,55	0	
	Molano-Flores et al. (2018)	<i>P. ionantha</i>		90% (5-10)		0 (5-10)	80% (5-10)	misto	alta	aproximação	protandria	16		0	19
<i>P. lutea</i>			90% (5-10)		0 (5-10)	90% (5-10)	misto	alta	aproximação	protandria	21		0	41	
<i>P. planifolia</i>			95% (5-10)		0 (5-10)	90% (5-10)	misto	alta	aproximação	protandria	19		0	30	
	Mues (2020)	<i>P. agnata</i>		40% (15)		0 (10)		predominantemente alógama	alta					0	20,8
		<i>P. cyclosecta</i>		0 (33)		0 (14)		alógama	alta				0	0	25,3
		<i>P. ehlersiae</i>		0 (25)		0 (14)		alógama	alta				0	0	19,3
		<i>P. emarginata</i>		25,0% (17)		0 (12)		predominantemente alógama	alta					0	38
		<i>P. esseriana</i>		0,0% (39)		0 (9)		alógama	alta				0	0	18,9
		<i>P. gigantea</i>		28,5% (15)		0 (14)		predominantemente alógama	alta					0	26,6
		<i>P. gracilis</i>		0,0% (31)		0 (5)		alógama	alta				0	0	16
		<i>P. gypsicola</i>		35,2% (19)		0 (17)		predominantemente alógama	alta					0	51,3
		<i>P. hemiepiphytica</i>		25,0% (15)		0 (4)		predominantemente alógama	alta					0	37,2
		<i>P. hirtiflora</i> var. <i>hirtiflora</i>		33,3% (10)		0 (6)		predominantemente alógama	alta					0	40,6
	<i>P. ibarrae</i>		70,0% (21)		0 (10)		misto	alta					0	11,7	
	<i>P. jaumavensis</i>		68,7% (26)		0 (16)		misto	alta					0	8,7	
	<i>P. laeana</i>		80,0% (6)		0 (5)		misto	alta					0	10,1	
	<i>P. medusina</i>		80,0% (10)		0 (5)		misto	alta					0	18,6	
	<i>P. mirandae</i>		25,0% (10)		0 (4)		predominantemente alógama	alta					0	64,3	
	<i>P. moctezumae</i>		0,0% (15)		0 (5)		alógama	alta					0	0	18,1
	<i>P. moranensis</i>		66,6% (15)		0 (6)		misto	alta					0	52,1	
	<i>P. moranensis</i> f. <i>alba</i>		91,6% (17)		0 (12)		misto	alta					0	43,1	
	<i>P. potosiensis</i>		100,0% (5)		0 (1)		misto	alta					0	25,5	
	<i>P. rectifolia</i>		50,0% (15)		0 (12)		misto	alta					0	32,2	

Pinguicula (B2)	Willis & Burkill (1903)	<i>P. vulgaris</i>				sim													
	Wood & Godfrey (1957)	<i>P. caerulea</i>				sim													
		<i>P. lutea</i>				sim													
		<i>P. pumila</i>				sim													
		<i>P. planifolia</i>				sim													
	Garcia et al. (1994)	<i>P. primuliflora</i>				sim													
		<i>P. longifolia subsp. longifolia</i>					não (30)											~27	
	Heslop-Harrison (2004)	<i>P. vulgaris</i>	0				sim												
		<i>P. grandiflora</i>	0		100% (45)		12,5% (8)												0,12
		<i>P. lusitanica</i>					sim												
	Nordin (2015)	<i>P. alpina</i>					sim												
		<i>P. alpina</i>		0	5		1	3											44,1
		<i>P. vulgaris</i>					sim												8,5
	Fleischmann (2016)	<i>P. caerulea</i>					não												
		<i>P. ionantha</i>					não												
<i>P. lutea</i>						não													
<i>P. primuliflora</i>						não													
<i>P. pumila</i>					sim	não													
<i>P. debbertiana</i>						não													
<i>P. filifolia</i>					sim	não													
<i>P. lusitanica</i>						sim													
<i>P. takakii</i>						sim													
<i>P. sharpii</i>						sim													
	<i>P. lilacina</i>					variável entre populações													
Pushkareva et al. (2018)	<i>P. vulgaris</i>					sim													
Bradford & Rogers (2020)	<i>P. pumila</i>					6,25% (16)													
Pinguicula (B3)	Müller (1881)	<i>P. alpina</i>																	
	Casper (1966) apud Lowel (1894)	<i>P. villosa</i>				sim													
		<i>P. vulgaris</i>					sim												
	Casper (1966) apud Henslow (1880)	<i>P. lusitanica</i>				sim													

Gentisea (B1)	Aranguren et al. (2018)	<i>G. violacea</i>		29,4% (17)	41,2% (17)	5,2% (19)	87,5% (24)	predominantemente alógamo	alta	aproximação			0,71	0,12	
Gentisea (B2)	Fleischmann (2011)	<i>G. exhibitionista</i>		sim		não									
		<i>G. filiformis</i>		sim		sim									
		<i>G. flexuosa</i>		sim		não									
		<i>G. glandulosissima</i>		sim		sim									
		<i>G. lobata</i>		sim		não									
		<i>G. margaretae</i>		sim		sim									
		<i>G. metallica</i>		sim		não									
		<i>G. nebulicola</i>		sim		não									
		<i>G. nigrocaulis</i>		sim		sim									
		<i>G. oligophylla</i>		sim		não									
		<i>G. oxycentron</i>		sim		sim									
		<i>G. pygmaea</i>		sim		sim									
		<i>G. repens</i>		sim		sim									
		<i>G. uncinata</i>		sim		não									
		<i>G. violacea</i>		sim		não									
Utricularia (B1)	Kondo (1972)	<i>U. juncea</i>		82% (28)	86% (38)			misto		temporária			0,95		
		<i>U. cornuta</i>		93% (16)	96% (29)			misto		temporária			0,96		
	Yamamoto & Kadono (1990)	<i>U. vulgaris var. japonica*</i>		0% (26)	0% (64)	0% (86)	0% (101)	estéril masculina		aproximação			0,00	0	54
		<i>U. tenuicaulis*</i>		92,3% (17)	69% (13)	0 (64)	69,5% (72)	misto	alta	aproximação			1,33	0	53,5
		<i>U. aurea</i>	0% (15)	83,3% (30)	96,6% (29)	81% (82)	73,7% (57)	misto	baixa	ausente			0,86	0,83	64,8
		<i>U. gibba</i>				93,8% (16)	78,6% (14)		baixa	ausente					26,4
	Khosla et al. (1998)	<i>U. inflexa</i>		70%		97-100%		obrigatoriamente autógama	baixa	ausente					13
	Araki & Kadono (2003)	<i>U. australis</i>		93,1% (58)	85,7% (21)	0 (56)		misto	alta				1,08	0	
	Kameyama et al. (2005)	<i>U. australis f. australis*</i>		0% (16)	0% (26)	0% (87)		estéril masculina	alta				0,00	0	
		<i>U. australis f. tenuicaulis*</i>		15,5% (12)	47,5% (47)	0% (17)		predominantemente alógama	alta				0,32	0	
		<i>U. macrorrhiza</i>		4,5% (12)	28,3% (67)	0 (51)		predominantemente alógama	alta				0,15	0	
	Hobbhahn et al. (2006)	<i>U. albocaerulea</i>				<1% (1000)	<i>Apis</i> 75% (29)		alta	aproximação, movimento					17+4
		<i>U. graminifolia</i>	11% (28)	92% (29)	100% (20)	7% (15)		misto	alta	aproximação			0,92	0,07	34+13
		<i>U. reticulata</i>		87% (30)	80% (10)	< 1% (1000)	<i>Apis</i> 83% (12)	misto	alta	aproximação, movimento			1,08	0,01	19+9
	Clivati et al. (2014)	<i>U. reniformis</i>	0 (12)	100% (7)	90% (10)	0 (13)	10% (30)	misto	alta	aproximação, movimento		~20	1,11	0,00	
	Chaudhary et al. (2018)	<i>U. praeterita</i>	0	87% (50)	67% (50)	65% (50)	63% (50)	misto	baixa	aproximação, movimento, temporária	protandria	20 horas	1,70	1,40	19
		<i>U. babui</i>	0	78% (50)	80% (50)	68% (50)	65% (250)	misto	baixa	aproximação, movimento, temporária	protandria	6	1,06	1,00	24
	Rodrigues et al. (em prep.)	<i>U. damazioi</i>	0 (5)	100% (17)	100% (15)	95% (20)	100% (17)	misto	baixa	aproximação, temporária	protogonia	6	1,00	0,95	

Utricularia (B2)	Knuth (1899)	<i>U. vulgaris</i>				rara														
	Newcombe (1922)	<i>U. vulgaris</i>			100% (7)	sim														
	Kausik & Raju (1955)	<i>U. reticulata</i>				sim														
	Jérémie (1989)	<i>U. alpina</i>	não		baixa	sim														
		<i>U. gibba</i>				sim														
		<i>U. uliginosa</i>				sim														
		<i>U. jamesoniana</i>				sim														
		<i>U. pusilla</i>				sim														
		<i>U. australis</i>				não														
		<i>U. amethystina</i>				sim														
		<i>U. hispida</i>				sim														
		<i>U. nana</i>				sim														
		<i>U. sandersoni</i>				sim														
		Menezes (2015)	<i>U. amethystina</i>				0 (9)	0 (10)												
Utricularia (B3)	Hildebrand (1865)	<i>U. vulgaris</i>																		
	Newcombe (1924)	<i>U. alpina</i>																		
		<i>U. uliginosa</i>																		
	Dolsan et al. (em prep.)	<i>U. neottioides</i>																		
* sinônimos de <i>U. australis</i>																				
SCI/SFI: valores em negrito foram publicados, os demais foram calculados neste trabalho.																				

Tabela 3. Atrativos florais em Lentibulariaceae (Categoria C). Dados levantados pelos estudos.

Gênero (Categoria)	Referência	Espécie	Cor (Reflectância)	Percepção polinizadores	Partes da flor		Odor
					Absorção UV	Reflexão UV	
<i>Pinguicula</i> (C1)	García <i>et al.</i> (1994)	<i>P. longifolia</i>				Guias	
	Burr <i>et al.</i> (1995)	<i>P. agnatha</i>				*	
		<i>P. alpina</i>				*	
		<i>P. colimensis</i>					*
		<i>P. ehlersiae</i>					*
		<i>P. esseriana</i>				*	
		<i>P. leptoceras</i>					*
		<i>P. lusitanica</i>				*	
		<i>P. moranensis</i>					*
		<i>P. orchidioides</i>					*
		<i>P. vulgaris</i>				*	
		<i>Pinguicula sp.</i>				*	
	Lunau (2007)	<i>P. alpina</i>				Guias	
	Arnold <i>et al.</i> (2009)	<i>P. vulgaris</i>	Rosa/roxa	abelha: azul; mosca: azul (p- y+)			
	Mues (2020)	<i>P. agnata</i>				Pétalas, anteras	
		<i>P. cyclosecta</i>				Pétalas, anteras	
		<i>P. emarginata</i>				Pétalas, anteras	
		<i>P. gigantea</i>				Pétalas, anteras	
		<i>P. gracilis</i>				Pétalas, anteras	
		<i>P. gypsicola</i>				Pétalas, anteras	
		<i>P. hirtiflora</i>				Pétalas, anteras	
		<i>P. ibarrae</i>				Pétalas, anteras	
		<i>P. laeana</i>				Pétalas, anteras	
<i>P. medusina</i>					Pétalas, anteras		
<i>P. moctezumae</i>					Pétalas, anteras		
<i>P. retifolia</i>				Pétalas, anteras			
<i>P. mirandae</i>				Pétalas (difusa), anteras			
<i>P. moranensis</i>				Pétalas (difusa), anteras			
<i>P. moranensis f. alba</i>				Pétalas (difusa), anteras			
<i>P. potosiensis</i>				Pétalas (difusa), anteras			
<i>P. ehlersiae</i>				Centro, anteras	Pétalas		
<i>P. esseriana</i>				Centro, anteras	Pétalas		
<i>P. hemiepiphytica</i>				Centro, anteras	Pétalas		
<i>P. jaumavensis</i>				Centro, anteras	Pétalas		
<i>Pinguicula</i> (C2)	Kerner (1894) <i>apud</i> Heslop-Harrison (2004)	<i>P. vulgaris</i>					presente
<i>Genlisea</i> (C1)	Burr <i>et al.</i> (1995)	<i>G. roraimensis</i> <i>Genlisea sp.</i>				*	*
<i>Utricularia</i> (C1)	Burr <i>et al.</i> (1995)	<i>U. caerulea</i>				*	
		<i>U. pubescens</i>				*	
		<i>U. chrysantha</i>					*
		<i>U. dichotoma</i>				*	
		<i>U. gibba</i>					*
		<i>U. graminifolia</i>				*	
		<i>U. lateriflora</i>				*	
		<i>U. livida</i>				*	
		<i>U. nephophyla</i>				*	
		<i>U. sandersonii</i>				*	
		<i>U. vulgaris</i>					*
	<i>U. multifida</i>				*		
	<i>U. tenella</i>					*	
	Lunau (2007)	<i>U. vulgaris</i>				Palato	Pétalas
	Mues (2020)	<i>U. subulata</i>				Palato	Pétalas
	Bergamo <i>et al.</i> (2021)	<i>U. reniformis</i>			abelha: azul (pétalas)		
	Tunes <i>et al.</i> (2021)	<i>U. triloba</i>	amarela				Pétalas
<i>Utricularia</i> (C1, C2)	Dolsan (em prep.)	<i>U. neottioides</i>	creme	mosca: verde (p- y-)	Pétalas		presente (semelhante a anonacea)
	Rodrigues (em prep.)	<i>U. damazioi</i>	flores fúcsia e flores lilases	abelha: azul (pétalas), verde(guias)	Pétalas (difusa)		presente (semelhante a canela)
<i>Utricularia</i> (C2)	Taylor (1989)	<i>U. albocaerulea</i>					presente
	Slinger (1954)	<i>U. livida</i>					presente (aroma delicado de mel)
	Jobson & Baleeiro (2015)	<i>U. byrneana</i>					presente (doce fragrância almiscarada)

(*) sem definição de qual parte da flor

Tabela 4. Diversidade de tricomas florais levantados pelos estudos em Lentibulariaceae (Categoria D).

Gênero	Referência	Espécie	Petalas/palato			Cálcxar			
			Tectores	Glandulares	Histoquímica	Tectores	Glandulares	Histoquímica	
<i>Pinguicula</i>	Pushkareva <i>et al.</i> (2018)	<i>P. vulgaris</i>		multicelulares capitados					
	Lustofin <i>et al.</i> (2020a)	<i>P. moctezumae</i>	multicelulares						
		<i>P. esseriana</i>	multicelulares						
		<i>P. moranensis</i>	multicelulares						
		<i>P. emarginata</i>	multicelulares						
		<i>P. rectifolia</i>	multicelulares						
		<i>P. mesophytica</i>	multicelulares						
		<i>P. hemiepiphytica</i>	multicelulares						
		<i>P. agnata</i>	multicelulares			amido			
		<i>P. albida</i>	multicelulares			amido			
		<i>P. ibarrae</i>	multicelulares			amido			
		<i>P. martinezii</i>	multicelulares			amido			
		<i>P. filifolia</i>	multicelulares			amido			
		<i>P. gigantea</i>	multicelulares			amido			
		<i>P. lusitanica</i>	multicelulares						
		<i>P. alpina</i>	multicelulares						
		<i>P. vulgaris</i>	multicelulares						
		Lustofin <i>et al.</i> (2020b)	<i>P. moctezumae</i>				papilas	capitados, base e pedunculo unicelulares, cabeça multicelular (4-8)	
			<i>P. moranensis</i>				papilas	capitados, base e pedunculo unicelulares, cabeça multicelular (4-8)	
			<i>P. rectifolia</i>				papilas	capitados, base e pedunculo unicelulares, cabeça multicelular (4-8)	
		<i>P. emarginata</i>				papilas	capitados, base e pedunculo unicelulares, cabeça multicelular (4-8)		
		<i>P. esseriana</i>				papilas	capitados, base e pedunculo unicelulares, cabeça multicelular (4-8)		

Genlisea	Plachno <i>et al.</i> (2018a)	<i>G. hispidula</i>	papilas cônicas	tricomas capitados, única célula basal, pedúnculo unicelular (2)*	lipídeo			
		<i>G. subglabra</i>	papilas cônicas	tricomas capitados, única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)				
		<i>G. roraimensis</i>	papilas cônicas	tricomas capitados, única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)				
		<i>G. africana</i>	papilas cônicas	tricomas capitados, única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)				
		<i>G. repens</i>	papilas cônicas	tricomas capitados, única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)				
		<i>G. pygmaea</i>	papilas cônicas	tricomas capitados, única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)				
	Aranguren <i>et al.</i> (2018)	<i>G. violacea</i>	células cônicas, tricomas de duas a três células	pedunculados		papilas	unicelulares	
Utricularia	Clivati <i>et al.</i> (2014)	<i>U. reniformis</i>				papilas	captados	
	Menezes (2015)	<i>U. amethystina</i>	células cônicas e papilas alongadas na face interna	unisseriados, captados		papilas	pedúnculo unicelular com base larga (nectário) (1-8)	
	Plachno <i>et al.</i> (2016)	<i>U. dunlopilii</i>		única célula basal, pedúnculo unicelular (4)	lipídeo, proteína, amido	papilas unicelulares	glandulares	
		<i>U. paulinae</i>	papilas compridas, unicelulares, capitadas com pontas esféricas	única célula basal, pedúnculo unicelular (4)	amido	papilas unicelulares	glandulares	
		<i>U. dichotoma</i>	papilas compridas, unicelulares, capitadas com pontas esféricas	única célula basal, pedúnculo unicelular (4)		papilas unicelulares	glandulares	
		<i>U. uniflora</i>	papilas compridas, unicelulares, capitadas com pontas esféricas	única célula basal, pedúnculo unicelular (4)		papilas unicelulares		
	Plachno <i>et al.</i> (2017a)	<i>U. cornigera</i>	papilas cônicas a viliformes (guias)	multicelulares, unisseriados (1-2)	lipídeo	papilas cônicas e globosas	capitados (8-10)	proteína, lipídeo
		<i>U. nelumbifolia</i>	papilas cônicas	multicelulares, unisseriados (1-3)	lipídeo	papilas cônicas a vilosas	multicelulares, unisseriados, capitados	proteína, lipídeo
	Plachno <i>et al.</i> (2017b)	<i>U. bremsii</i>		única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	amido, lipídeo		única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	
		<i>U. minor</i>		única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	amido, lipídeo		única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	
	Chaudhary <i>et al.</i> (2018)	<i>U. praeterita</i>				papilas cônicas	esféricos	
		<i>U. babui</i>				papilas cônicas	esféricos	
	Plachno <i>et al.</i> (2018b)	<i>U. vulgaris</i>				papilas unicelulares	única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	
		<i>U. australis</i>				papilas unicelulares	única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	
		<i>U. bremsii</i>				papilas unicelulares	única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	
		<i>U. foliosa</i>				papilas cônicas	única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	
	Plachno <i>et al.</i> (2019a)	<i>U. menziesii</i>	papilas, tricomas unicelulares			papilas	única célula basal, pedúnculo unicelular (multicelular)	cutícula, amido, lipídeo
	Plachno <i>et al.</i> (2019b)	<i>U. multifida</i>	papilas, tricomas multicelulares, células "quebra-cabeça"	glandulares	lipídeo (pouco)	papilas, tricomas multicelulares	glandulares	
		<i>U. tenella</i>		glandulares	lipídeo (pouco)	papilas, tricomas multicelulares	glandulares	
		<i>U. violacea</i>		glandulares		papilas, tricomas multicelulares	glandulares	
	Dolsan (em prep.)	<i>U. neottioides</i>	papilas	glandulares				

*Entre parênteses: número de células da cabeça do tricoma, intervalo se houver variação

Tabela 5. Análises de néctar em Lentibulariaceae (Categoria E). Dados levantados pelos estudos e razão S/(F + G) (Baker & Baker 1990).

Gênero (Categoria)	Referência	Espécies	Presença	Volume (µl)	Concentração de açúcares (%)	Quantidade de açúcares/ flor (mg)	Composição (%)	S/(F + G)
Pinguicula (E1)	García et al. (1994)	<i>P. longifolia</i>		0.04				
	Zamora (1999)	<i>P. vallisneriifolia</i>		0.03				
	Mues (2020)	<i>P. agnata</i>		0				
		<i>P. cyclosecta</i>		1.747 ± 0.485	11.3 ± 1.1	0.20 ± 0.06		
		<i>P. ehlersiae</i>		0.789 ± 0.449	15.5 ± 4.8	0.14 ± 0.06		
		<i>P. emarginata</i>		0				
		<i>P. esseriana</i>		0.557 ± 0.252	11.3 ± 6.0	0.07 ± 0.03		
		<i>P. gigantea</i>		0.189 ± 0.190	38.2 ± 18.4	0.15 ± 0.15		
		<i>P. gracilis</i>		0.149 ± 0.071				
		<i>P. gypsicola</i>		0.260 ± 0.107	9.3 ± 2.0	0.02 ± 0.01		
		<i>P. hemiepiphytica</i>		3.934 ± 3.083	9.2 ± 2.2	0.39 ± 0.27		
		<i>P. hirtiflora</i> var. <i>hirtiflora</i>		0.003 ± 0.003				
		<i>P. ibarrae</i>		0.036 ± 0.012				
		<i>P. jaumavensis</i>		0.319 ± 0.205	12.3 ± 9.2	0.03 ± 0.03		
		<i>P. laeana</i>		2.248 ± 1.739	8.1 ± 1.7	0.18 ± 0.16		
		<i>P. medusina</i>		0.022 ± 0.015				
		<i>P. mirandae</i>		0.009 ± 0.012				
		<i>P. moctezumae</i>		9.658 ± 3.558	9.0 ± 4.3	0.97 ± 0.72		
	<i>P. moranensis</i>		1.092 ± 0.861	7.3 ± 2.5	0.08 ± 0.06			
	<i>P. moranensis</i> f. <i>alba</i>		4.322 ± 4.457	7.9 ± 2.3	0.28 ± 0.21			
	<i>P. potosiensis</i>		2.124 ± 0.878	5.1 ± 1.1	0.11 ± 0.06			
	<i>P. rectifolia</i>		1.179 ± 1.360	7.3 ± 2.4	0.09 ± 0.06			
Pinguicula (E2)	Abrahamczyk et al. (2017)	<i>P. alpina</i>			1.8		Sacarose: 100 Glicose: 0 Frutose: 0	sacarose-dominante
		<i>P. gigantea</i>			12.8		Sacarose: 100 Glicose: 0 Frutose: 0	sacarose-dominante
		<i>P. leptoceras</i>			26.24		Sacarose: 3 Glicose: 47 Frutose: 49	hexose-dominante
		<i>P. macrophylla</i>			2.4		Sacarose: 16 Glicose: 5 Frutose: 77	rico em hexose
		<i>P. moctezumae</i>			9.14		Sacarose: 21 Glicose: 18 Frutose: 60	rico em hexose
Pinguicula (E3)	Heslop-Harrison (2004)	<i>P. vulgaris</i>	sim					
		<i>P. lusitanica</i>	sim					
	Fleischmann (2016)	<i>P. caerulea</i>	sim					
		<i>P. ionantha</i>	sim					
		<i>P. lutea</i>	sim					
		<i>P. primuliflora</i>	sim					
		<i>P. pumila</i>	sim					
		<i>P. debbertiana</i>	sim					
Genlisea (E3)	Aranguren et al. (2018)	<i>G. violacea</i>	sim					
Utricularia (E1)	Anand et al. (2007)	<i>U. graminifolia</i>		< 0.5		0 - 0.20		
Utricularia (E2)	Hobbahn et al. (2006)	<i>U. albocaeerulea</i>	sim					
		<i>U. graminifolia</i>		0.03 (Md)	37.9 ± 13.7	0.005 ± 0.005		
		<i>U. reticulata</i>		0.06 (Md)	53.5 ± 11.4	0.005 ± 0.004		
	Abrahamczyk et al. (2017)	<i>U. alpina</i>			27.5		Sacarose: 100 Glicose: 0 Frutose: 0	sacarose-dominante
		<i>U. nephrophylla</i>			84.1		Sacarose: 6.068 Glicose: 44.449 Frutose: 49.481	hexose-dominante
		<i>U. reniformis</i>			32.7		Sacarose: 1.924 Glicose: 45.796 Frutose: 52.279	hexose-dominante
	Chaudhary et al. (2018)	<i>U. babui</i>		0.25 ± 0.01	60	0.48 mg/mL (aminoácidos)		
		<i>U. praeterita</i>	não					
	Plachno et al. (2019a)	<i>U. menziesii</i>		3.0			Sacarose: 10 Glicose: 50 Frutose: 50	rico em hexose
	Plachno et al. (2019b)	<i>U. multifida</i>				Frutose 0.042 ± 0.005 Glicose 0.036 ± 0.005	Frutose 54 ± 0.5 Glicose 46 ± 0.5	hexose-dominante
		<i>U. tenella</i>				Frutose 0.008 ± 0.003 Glicose 0.006 ± 0.002	Frutose 54 ± 1.2 Glicose 46 ± 1.2	hexose-dominante
		<i>U. violacea</i>				Frutose 0.020 ± 0.001 Glicose 0.014 ± 0.001	Frutose 58 ± 0.3 Glicose 42 ± 0.3	hexose-dominante
Utricularia (E3)	Menezes (2015)	<i>U. amethystina</i>	sim					
	Plachno et al. (2016)	<i>U. paulinae</i>	sim					
		<i>U. uniflora</i>	sim					
	Plachno et al. (2017a)	<i>U. nelumbifolia</i>	sim					
	Plachno et al. (2018)	<i>U. vulgaris</i>	sim					

FIGURAS

Figura 1. Diagrama de fluxo PRISMA 2020 para o número de estudos encontrados, triados e incluídos na revisão, por meio de banco de dados e outras fontes (baseado em Page et al., 2020).

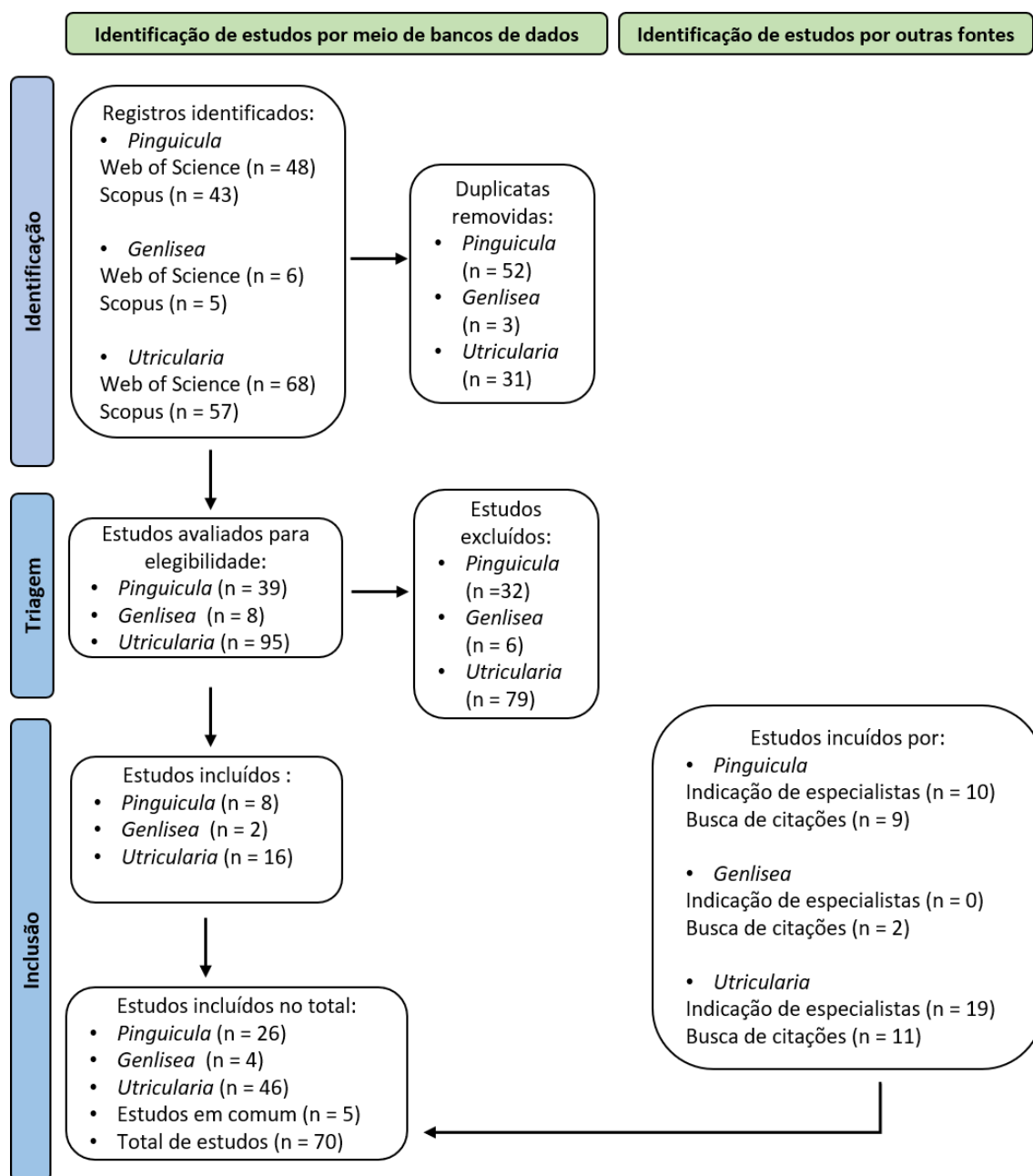


Figura 2. Literatura incluída. (A) Número de estudos classificados por tipo de literatura, branca (branco) e cinzenta (cinza); (B) Porcentagem de estudos que abrangeram os principais resultados; (C) Resultados por gênero: porcentagem de estudos (gráfico à esquerda), de espécies (gráfico à direita) e número de estudos por período (gráfico abaixo).

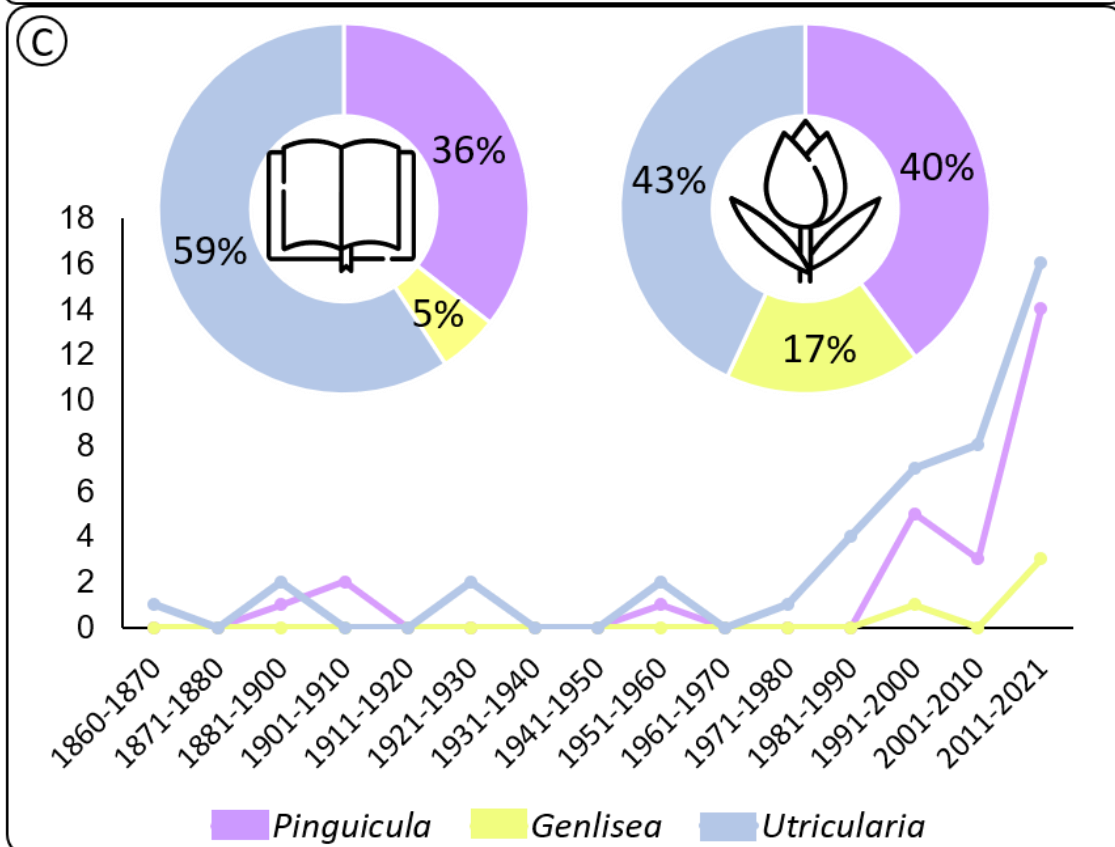
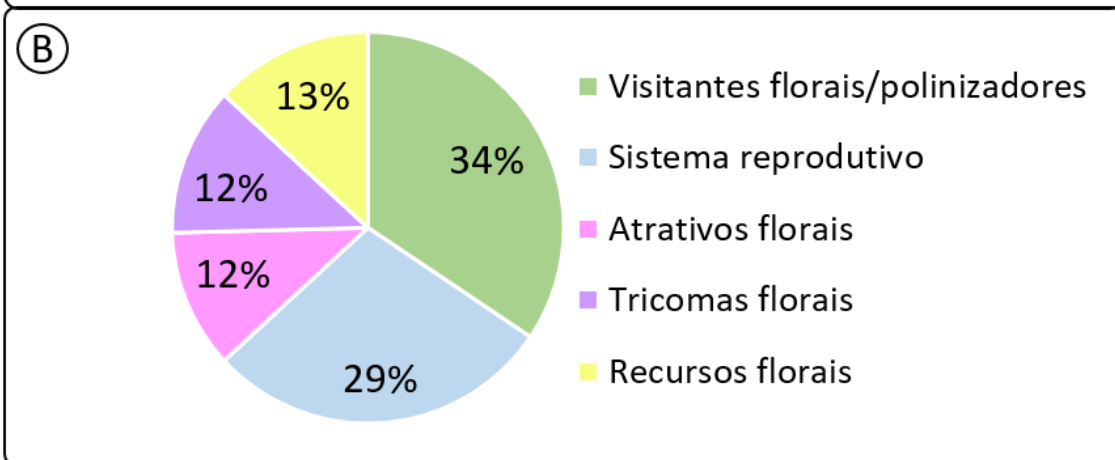
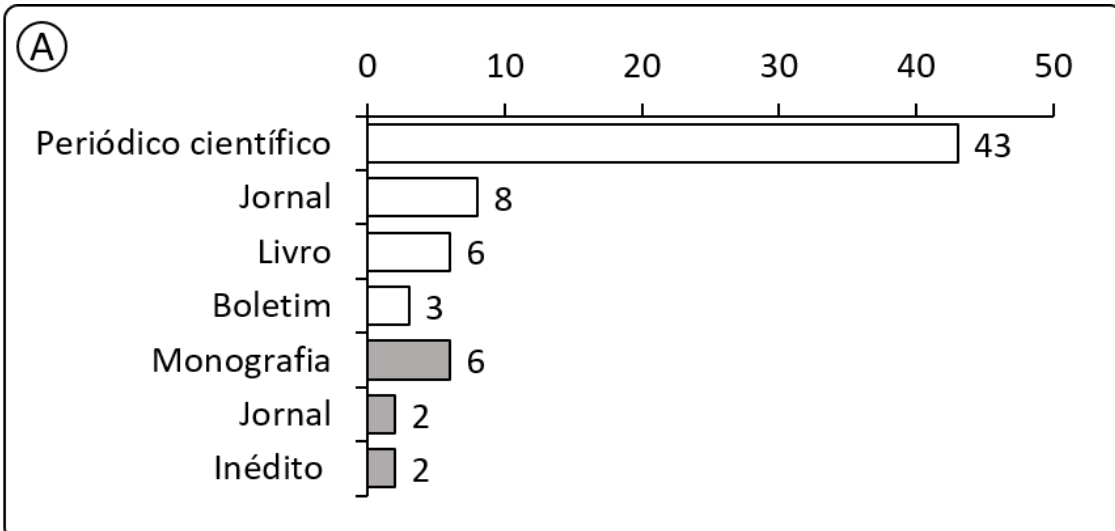


Figura 3. Visitantes florais registrados em (A) *Pinguicula*, (B) *Genlisea* e (C) *Utricularia*. Porcentagens das ordens taxonômicas dos visitantes, características analisadas dos visitantes e localizações das espécies de Lentibulariaceae observadas.

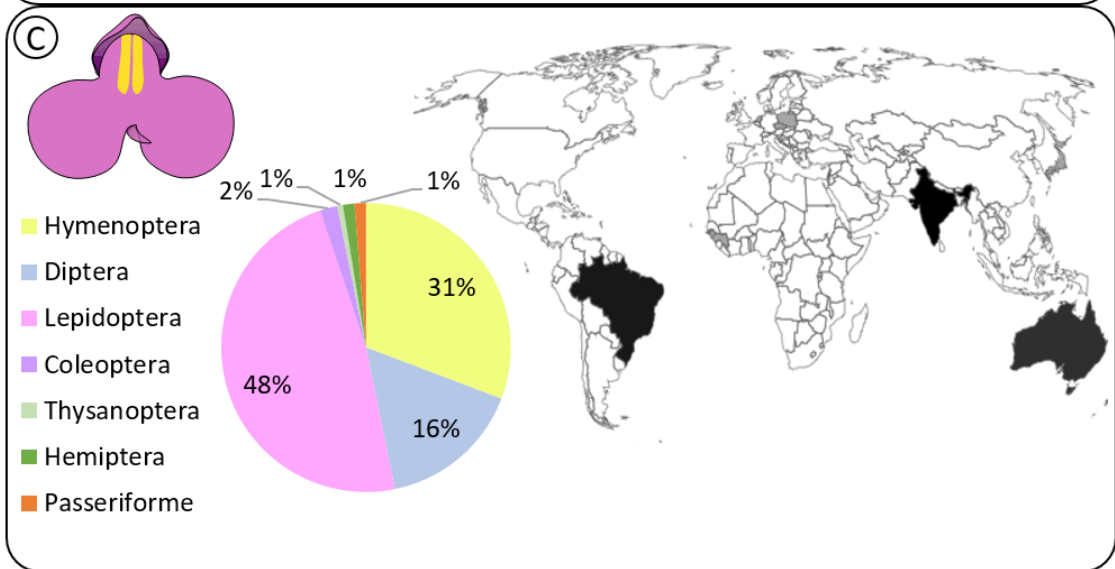
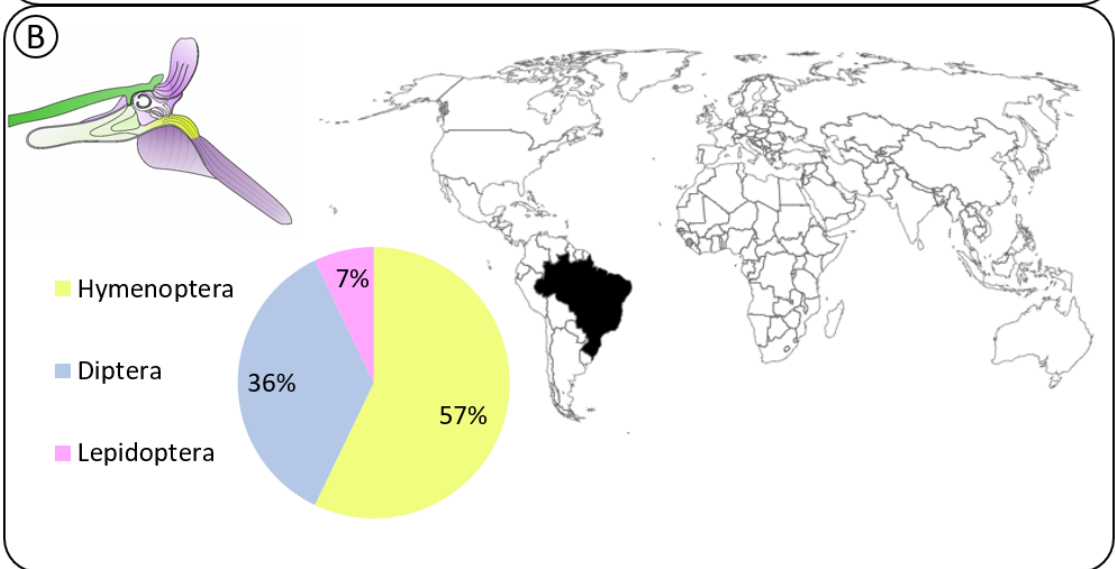
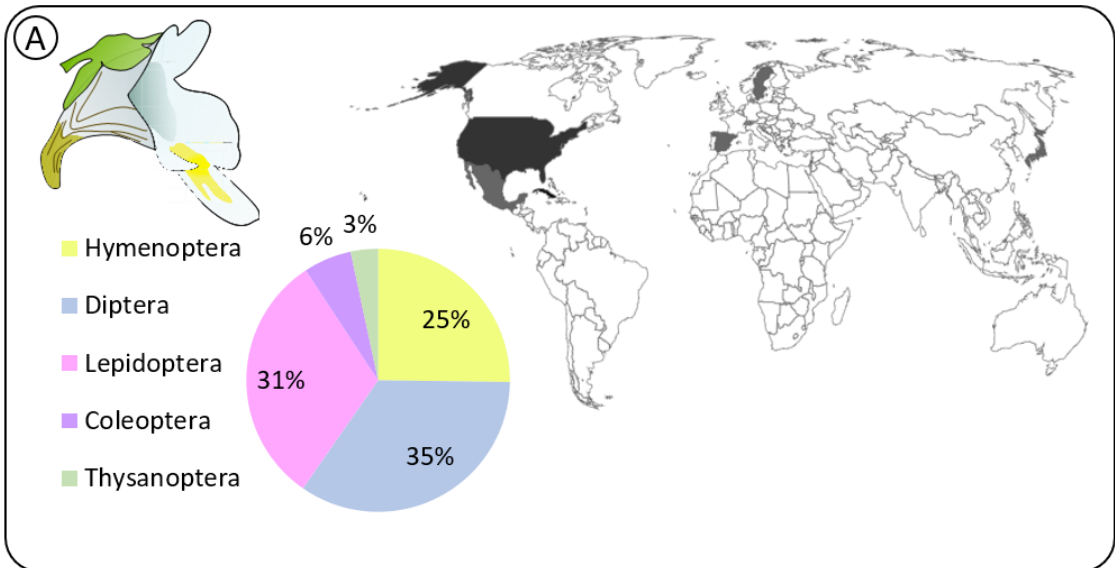


Figura 4. Visitantes florais (esquerda) e polinizadores (direita) por tipos florais. (A) Tipos de corola; (B) Cor das pétalas e (C) Reflectância da corola (apenas visitantes florais). Imagens: *U. reniformis*, *G. violaceae* e *P. moranensis* (Laboratório de Sistemática Vegetal – FCAV/UNESP); *U. vulgaris* (Plachnno *et al.* 2018b) e *U. bremii* (Plachnno *et al.* 2017a); *P. caerulea* Disponível em: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Blue_Flower_Butterwort_\(Pinguicula_caerulea\)_38311735434.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Blue_Flower_Butterwort_(Pinguicula_caerulea)_38311735434.jpg)

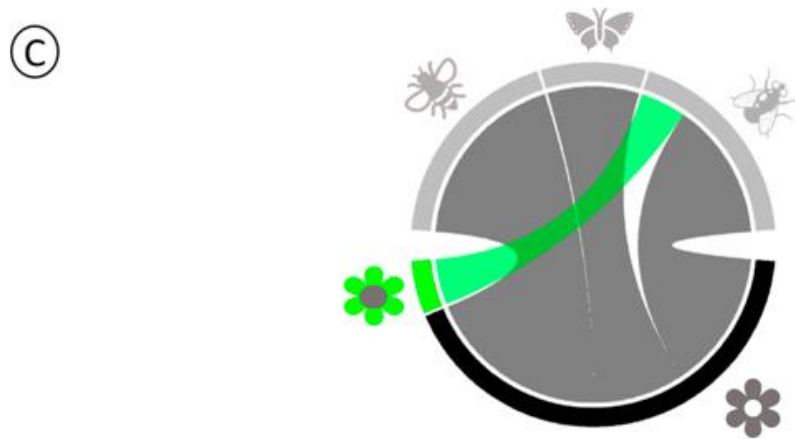
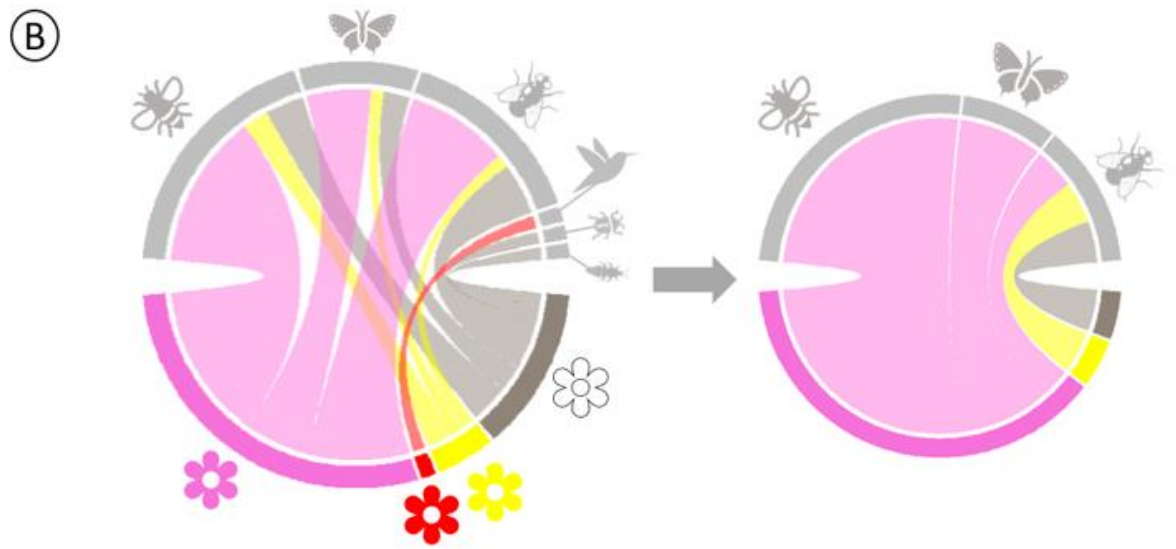
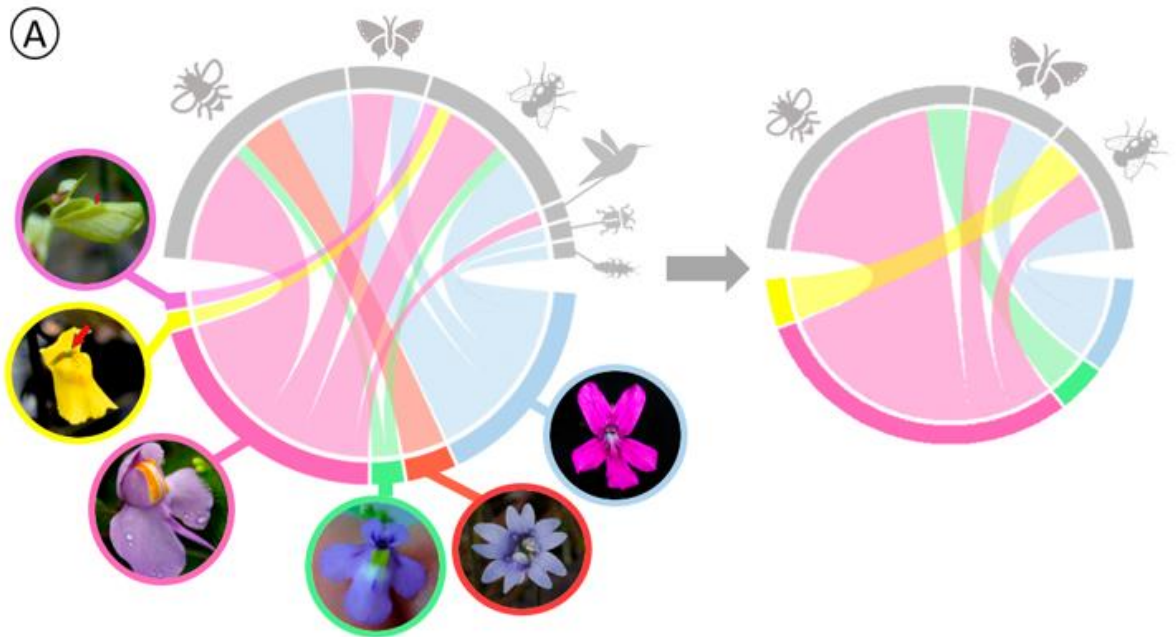
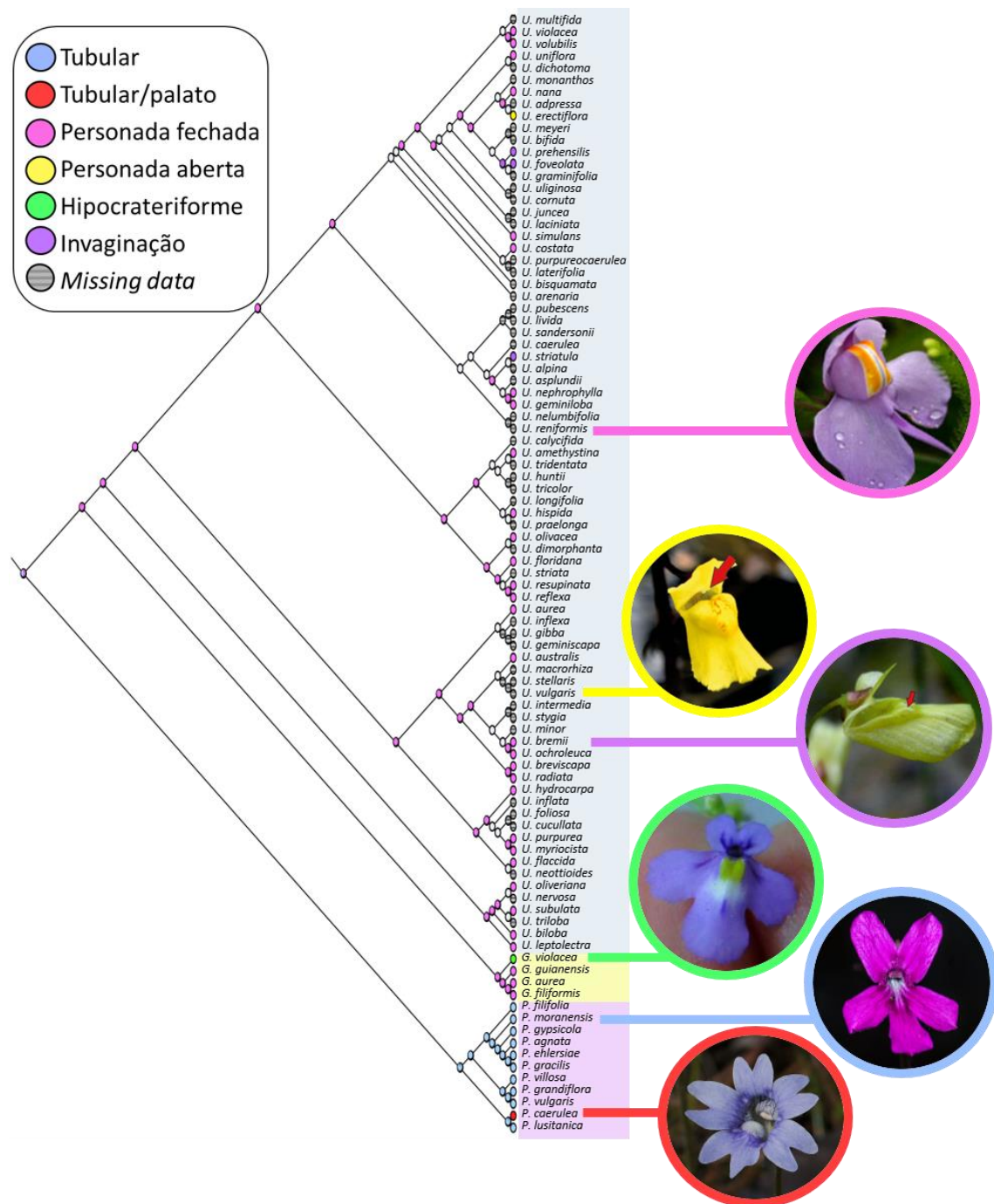


Figura 5. Distribuição de formatos de corola em filogenia de Lentibulariaceae.

Imagens: *U. reniformis*, *G. violaceae* e *P. moranensis* (Laboratório de Sistemática Vegetal – FCAV/UNESP); *U. vulgaris* (Plachnno *et al.* 2018b) e *U. breinii* (Plachnno *et al.* 2017a); *P. caerulea* Disponível em: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Blue_Flower_Butterwort_\(Pinguicula_caerulea\)_38311735434.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Blue_Flower_Butterwort_(Pinguicula_caerulea)_38311735434.jpg)



INFORMAÇÃO SUPLEMENTAR

Apêndice S1. Termos para buscas booleanas usadas contra os bancos de dados *Web of Science* e *Scopus*.

- A. “Utricularia” AND (“pollinat*” OR “visit*” OR “breeding system” OR “reproductive biology” OR “allogamy” OR “autogamy” OR “herkogamy” OR “floral biology” OR “floral morphology” OR “floral traits” OR “floral scent” OR “nectar” OR “rewards” OR “resources” OR “reflectance” OR “UV” OR “volatiles”)
- B. “Pinguicula” AND (“pollinat*” OR “visit*” OR “breeding system” OR “reproductive biology” OR “allogamy” OR “autogamy” OR “herkogamy” OR “floral biology” OR “floral morphology” OR “floral traits” OR “floral scent” OR “nectar” OR “rewards” OR “resources” OR “reflectance” OR “UV” OR “volatiles”)
- C. “Genlisea” AND (“pollinat*” OR “visit*” OR “breeding system” OR “reproductive biology” OR “allogamy” OR “autogamy” OR “herkogamy” OR “floral biology” OR “floral morphology” OR “floral traits” OR “floral scent” OR “nectar” OR “rewards” OR “resources” OR “reflectance” OR “UV” OR “volatiles”)

Apêndice S2. Informações extraídas dos estudos.

- Estudo: título, ano, autores, objetivos, principais resultados, dificuldades, perspectivas;
- Espécies: localidade, clima, habito, hábitat, subgênero, seção, espécie;
- Corola: cor, formato, tamanho, tamanho do cálcio, hercogamia, dicogamia, tempo de antese;
- Sistema reprodutivo: testes do sistema reprodutivo, amostragem, viabilidade polínica, receptividade estigmática, razão P/O, hercogamia, dicogamia;
- Atrativos: reflectância floral, percepção dos polinizadores e odor;
- Tricomas florais: tricomas tectores e glandulares, nectários, histoquímica;

- Néctar: presença, volume, concentração de açúcares, quantidade de açúcares, composição;
- Observações do visitante floral: tipo de observação, populações observadas, densidade de indivíduos floridos, período, dias/horas observadas, táxons dos visitantes, legitimidade da visita, morfometria do visitante, medida de eficácia/eficiência, recurso buscado, comportamento.

Apêndice S3. Estudos incluídos na revisão sistemática.

1. Abrahamczyk S., Kessler M., Hanley D., Karger D.N., Müller M.P.J., Knauer A.C., Keller F., Schwerdtfeger M., Humphreys A.M. (2017b) Pollinator adaptation and the evolution of floral nectar sugar composition. *Journal of Evolutionary Biology* **30**:112–127.
2. Anand C., Umranikar C., Shintre P., Damle A., Kale J., Joshi J., Watve M. (2007) Presence of two types of flowers with respect to nectar sugar in two gregariously flowering species. *Journal of Biosciences* **32**:769–774.
3. Araki S., Kadono Y. (2003) Restricted seed contribution and clonal dominance in a free-floating aquatic plant *Utricularia australis* R. Br. in southwestern Japan: Clonal dominance in aquatic bladderwort. *Ecological Research* **18**:599–609.
4. Aranguren Y., Plachno B.J., Stpiczynska M., Miranda V.F.O. (2018) Reproductive biology and pollination of the carnivorous *Genlisea violacea* (Lentibulariaceae). *PLANT BIOLOGY* **20**:591–601.
5. Arnold S.E., Savolainen V., Chittka L. (2009) Flower colours along an alpine altitude gradient, seen through the eyes of fly and bee pollinators. *Arthropod-Plant Interactions* **3**:27–43.
6. Balachandran C., Chandran M.D.S., Ramachandra T.V. (2014) Keystone food resources for honey bees in South Indian west coast during monsoon. *CURRENT SCIENCE* **106**:9.
7. Benavente-Romo C., Sandoval-Ortega M.H. (2021) Contribución al conocimiento de *Pinguicula oblongiloba* (Lentibulariaceae) en Aguascalientes, México: distribución, morfología y visitantes florales. :9.

8. Bergamo P.J., Streher N.S., Zambon V., Wolowski M., Sazima M. (2021) Pollination generalization and reproductive assurance by selfing in a tropical montane ecosystem. *The Science of Nature* **108**:50.
9. Bourke G., Forshey J. (2003) Kingsway West NSW 2208 (Australia).
10. Bradford J., Beach J., Rogers G. (2020) Small Butterwort (*Pinguicula pumila*) in its natural habitat. **49**:8.
11. Burr B., Rosen D., Barthlott W. (1995) Untersuchungen zur Ultraviolettreflexion von Angiospermenblüten. III. Dilleniidae und Asteridae. *Trop Subtrop Pflanzenwelt* **93**:186.
12. Casper S.J. (1966) Monographie der Gattung *Pinguicula* L.
13. Chaudhary A., Yadav S.R., Tandon R. (2018) Delayed selfing ensures reproductive assurance in *Utricularia praeterita* and *Utricularia babui* in Western Ghats. *Journal of Plant Research* **131**:599–610.
14. Clivati D., Cordeiro G.D., Płachno B.J., de Miranda V.F.O. (2014) Reproductive biology and pollination of *Utricularia areniformis* A.St.-Hil. (Lentibulariaceae) (A. Dafni, Ed.). *Plant Biology* **16**:677–682.
15. Dominguez Y. 2012. Alla ricerca delle pinguicole di Cuba occidentale. *AIPC Magazine*. 3: 2 – 14.
16. Domínguez Y., da Silva S.R., Panfet Valdes C.M., de Miranda V.F. (2014) Inter- and intra-specific diversity of Cuban *Pinguicula* (Lentibulariaceae) based on morphometric analyses and its relation with geographical distribution. *Plant Ecology & Diversity* **7**:519–531.
17. Fleischmann A. (2012a) *Phylogenetic relationships, systematics, and biology of carnivorous Lamiales, with special focus on the genus Genlisea (Lentibulariaceae)*. PhD Thesis, lmu
18. Fleischmann A. (2012b) *Monograph of the genus Genlisea*. Redfern Natural History Productions, Poole, Dorset, England.
19. Fleischmann A. (2016) *Pinguicula* flowers with pollen imitations close at night – some observations on butterwort flower biology. **45**:10.
20. García M.B., Antor R.J., Villar L. (1994) Phenomorphology and reproductive biology of *Pinguicula longifolia* Ramond ex DC. subsp. *longifolia* (Lentibulariaceae), a carnivorous endemic plant of the Pyrenees. *Acta Botanica Gallica* **141**:343–349.

21. Gibson R. 1997. Observations on a selection of Tasmanian carnivorous plants. *Carnivorous Plant Newsletter*. 27.
22. Gibson R. 1999. Highlights of a trip to western Australia. *Carnivorous Plant Newsletter*. 30.
23. Heinsius H.W. (1890) *Bijdrage tot de kennis der bestuiving van inlandsche bloemen door insecten*. P. Noordhoff.
24. Heslop-Harrison Y. (2004) *Pinguicula* L. *Journal of Ecology* **92**:1071–1118.
25. Hildebrand F. 1869. Weitere Beobachtungen fiber die Bestäubungsverhdltnisse an Bliithen. *Utriculariavulgaris*. *Bot. Zeit* 27: 1869.
26. Hildebrand. 1865. Weitere Beobachtungen über die Bestäubungsverhältnisse an Bliithen. In: *Botanische Zeitung*.
27. Hingston A.B., Quillan P.B.M. (2000) Are pollination syndromes useful predictors of floral visitors in Tasmania? :10.
28. Hobbhahn N., KÜchmeister H., Porembski S. (2006) Pollination Biology of Mass Flowering Terrestrial *Utricularia* Species (Lentibulariaceae) in the Indian Western Ghats. *Plant Biology* **8**:791–804.
29. Janarthanam M.K. (1999) Comments from an ICPS Correspondent:" Nelipu" of van Rheede.
30. Jeremie J. (1989) Autogamy in the genus *Utricularia* L. (Lentibulariaceae) [Autogamie dans le genre *Utricularia* L. (Lentibulariaceae)]. *Bulletin - Museum National d'Histoire Naturelle, Section B: Adansonia* **11**:17–28.
31. Jobson R.W., Baleeiro P.C. (2015) Two new species of *Utricularia* (Lentibulariaceae) from the North West region of Western Australia. *Telopea* **18**:201–208.
32. Kameyama Y., Toyama M., Ohara M. (2005) Hybrid origins and F1 dominance in the free-floating, sterile bladderwort, *Utricularia australis* f. *australis* (Lentibulariaceae). *American Journal of Botany* **92**:469–476.
33. Kausik S.B., Raju M.V.S. (1955) A contribution to the floral morphology and embryology of *Utricularia reticulata* Smith. In: *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B*. Springer, India, pp 155–166.
34. Keighery G.J. (1982) Bird-pollinated plants in Western Australia. *Pollination and evolution*:77–89.

35. Khosla C., Shivanna K.R., Mohan Ram H.Y. (1998) Pollination in the aquatic insectivore *Utricularia inflexa* var. *stellaris*. *Phytomorphology: An International Journal of Plant Morphology* **48**:417–425.
36. Killian C. (1953) Contribution a l'étude de la biologie de quelques *Utricularia* tropicaux. *Bulletin de l'Institut Français d'Afrique Noire* **15**:72–82.
37. Knuth P. (1898) *Handbuch der Blütenbiologie. Unter Zugrundelegung von HERMANN MULLERs Werk: „Die Befruchtung der Blumen durch Insekten“, II. Band. 1. Teil: Ranunculaceae bis Compositae.* Leipzig: W Engelmann:570–577.
38. Kondo K. (1972) A comparison of variability in *Utricularia cornuta* and *Utricularia juncea*. *American Journal of Botany* **59**:23–37.
39. Lowrie A. (2001) Floral mimicry and pollinator observations in carnivorous plants. *Bulletin of the Australian Carnivorous Plant Society* **20**:10–11.
40. Lunau K. (2006) Stamens and mimic stamens as components of floral colour patterns. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* **127**:13–41.
41. Lustofin K., Świątek P., Miranda V.F.O., Płachno B.J. (2020b) Flower nectar trichome structure of carnivorous plants from the genus butterworts *Pinguicula* L. (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **257**:245–259.
42. Lustofin K., Świątek P., Stolarczyk P., Miranda V.F., Płachno B.J. (2020a) Do food trichomes occur in *Pinguicula* (Lentibulariaceae) flowers? *Annals of Botany* **126**:1039–1048.
43. Menezes C.G. (2015) SISTEMÁTICA, EVOLUÇÃO E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Utricularia* COM ÊNFASE PARA *Utricularia amethystina* Salzm. ex A.St.-Hil. & Girard (LENTIBULARIACEAE)
44. Molano-Flores B., Primer S., Annis J., Feist M.A., Coons J., Digges R. (2018) Reproductive ecology of three rare North American *Pinguicula* species. *Plant Species Biology* **33**:129–139.
45. Molau U. (1993) Reproductive ecology of the three Nordic *Pinguicula* species (Lentibulariaceae). *Nordic Journal of Botany* **13**:149–157.
46. Mues A.W. (2020) *Functional Integration of Floral Plant Traits: Shape and Symmetry, Optical Signal, Reward and Reproduction in the Angiosperm Flower.* Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn
47. Müller H. (1881) *Alpenblumen, ihre Befruchtung durch Insekten und ihre Anpassungen an dieselben.* W. Engelmann.

48. Newcombe F.C. (1922) Significance of the behavior of sensitive stigmas. *American Journal of Botany* **9**:99–120.
49. Newcombe F.C. (1924) Significance of the behavior of sensitive stigmas II. *American Journal of Botany* **11**:85–93.
50. Nordin M. (2015) *Pinguicula alpina* (alpine butterwort) on the Swedish island of Gotland: pollination and reproductive. Thesis, Uppsala University, Disciplinary Domain of Science and Technology, Biology, Biology Education Centre:29.
51. Płachno B.J., Stpiczyńska M., Adamec L., Miranda V.F.O., Świątek P. (2018b) Nectar trichome structure of aquatic bladderworts from the section *Utricularia* (Lentibulariaceae) with observation of flower visitors and pollinators. *Protoplasma* **255**:1053–1064.
52. Płachno B.J., Stpiczyńska M., Davies K.L., Świątek P., de Miranda V.F.O. (2017b) Floral ultrastructure of two Brazilian aquatic-epiphytic bladderworts: *Utricularia cornigera* Studnička and *U. nelumbifolia* Gardner (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **254**:353–366.
53. Płachno B.J., Stpiczyńska M., Krajewski Ł., Świątek P., Adamec L., Miranda V.F.O. (2017a) Flower palate structure of the aquatic bladderworts *Utricularia bremii* Heer and *U. minor* L. from section *Utricularia* (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **254**:2007–2015.
54. Płachno B.J., Stpiczyńska M., Świątek P., Davies K.L. (2016) Floral micromorphology of the Australian carnivorous bladderwort *Utricularia dunlopiae*, a putative pseudocopulatory species. *Protoplasma* **253**:1463–1473.
55. Płachno B.J., Stpiczyńska M., Świątek P., Lambers H., Cawthray G.R., Nge F.J., Silva S.R., Miranda V.F.O. (2019b) Floral micromorphology and nectar composition of the early evolutionary lineage *Utricularia* (subgenus *Polypompholyx*, Lentibulariaceae). *Protoplasma* **256**:1531–1543.
56. Płachno B.J., Stpiczyńska M., Świątek P., Lambers H., Miranda V.F.O., Nge F.J., Stolarczyk P., Cawthray G.R. (2019) Floral micromorphology of the bird-pollinated carnivorous plant species *Utricularia menziesii* R.Br. (Lentibulariaceae). *Annals of Botany* **123**:213–220.
57. Płachno B.J., Świątek P., Stpiczyńska M., Miranda V.F.O. (2018a) Flower palate ultrastructure of the carnivorous plant *Genlisea hispidula* Stapf with remarks on the structure and function of the palate in the subgenus *Genlisea* (Lentibulariaceae). *Protoplasma* **255**:1139–1146.
58. Proctor M., Yeo P., Lack A. (1996) *The natural history of pollination*. HarperCollins Publishers.

59. Pushkareva L.A., Vinogradova G.Y., Titova G.E. (2018) Reproductive biology of *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae) in Leningrad region. *ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ* **103**:1511.
60. Salmon B. (2001) *Carnivorous plants of New Zealand*. Ecosphere publications.
61. Shimai H., Setoguchi H., Roberts D.L., Sun M. (2021) Biogeographical patterns and speciation of the genus *Pinguicula* (Lentibulariaceae) inferred by phylogenetic analyses. *PLOS ONE* **16**
62. Slinger J. (1954) The Morphology and Anatomy of *Utricularia transrugosa* Stapf. *Bothalia* **6**:385–406.
63. Taylor P. (1989) The genus *Utricularia*. A taxonomic monograph. *Kew Bulletin*:1–724.
64. Tunes P., Camargo M.G.G., Guimarães E. (2021) Floral UV features of plant species from a Neotropical savanna. *Frontiers in plant science* **12**:618028.
65. Villegas S.G., Alcalá R.E. (2018) Reproductive ecology of the carnivorous plant *Pinguicula moranensis* (Lentibulariaceae). *Plant Biology* **20**:205–212.
66. Willis J.C., Burkill I.H. (1903) Flowers and insects in Great Britain. Part III. Observations on the most specialized flowers of the Clova Mountains. *Annals of Botany* **17**:539–570.
67. Wood C.E., Godfrey R.K. (1957) *Pinguicula* (Lentibulariaceae) in the southeastern united states. *Rhodora* **59**:217–230.
68. Yamamoto I., Kadono Y. (1990) A study on the reproductive biology of aquatic *Utricularia* species in southwestern Japan. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* **41**:189–200.
69. Zamora R. (1999) Conditional outcomes of interactions: the pollinator–prey conflict of an insectivorous plant. *Ecology* **80**:786–795.
70. Zamora R., Jamilena M., Ruiz Rejón M., Blanca G. (1996) Two new species of the carnivorous genus *Pinguicula*, (Lentibulariaceae) from Mediterranean habitats. *Plant Systematics and Evolution* **200**:41–60.

Tabela S1. Descrição das categorias criadas para as informações extraídas.

Categoria	Descrição
A Polinizador	
A1 Polinizador comprovado	Observações sistemáticas e diretas no campo da transferência de pólen entre flores por visitantes florais que polinizam a flor. Há a comprovação do polinizador pela avaliação do sucesso na deposição de pólen (eficácia) ou no sucesso reprodutivo da planta após a visita do polinizador (eficiência). Os dados podem incluir análise do pólen aderido ao inseto, deposição de pólen no estigma, retirada de pólen das anteras, sucesso de frutificação e de germinação das sementes (Ne'eman, 2010).
A2 Polinizador definido por observação direta	Observação sistemática e direta no campo de um visitante em contato com a antera / estigma, inferido como polinizador. Os dados podem incluir horário e frequência das visitas e informações sobre biologia floral.
A3 Polinizador definido por observação circunstancial	Polinizador definido por observação de campo circunstancial e oportunista de visitantes florais em contato com a antera / estigma. Considere uma eventual avaliação qualitativa da frequência de visitação e biologia floral.
A4 Registro de visitante floral	Visitante floral registrado, sem informações sobre o contato com antera/ estigma.
A5 Definição indireta de polinizador	Sistema polinizador definido apenas com base na morfologia floral e atributos florais observados em campo, fotos, comprovantes de herbário ou literatura geral. Podem incluir informações não publicadas sobre observações de outros pesquisadores.
B Sistema reprodutivo	
B1 Sistema reprodutivo comprovado	Definição do sistema reprodutivo a partir de experimento de polinização sistematizado e controlado. Podem incluir dados de hercogamia, dicogamia, tempo de antese, avaliação da viabilidade das estruturas reprodutivas (receptividade estigmática, viabilidade polínica), razão P/O, índices de autocompatibilidade de autofertilidade.

B2	Sistema reprodutivo definido por observação direta	Inferência do sistema reprodutivo por meio de observação em campo/casa de vegetação da produção de frutos. Podem incluir polinizações manuais eventuais, razão P/O, número de grãos de pólen por antera ou hercogamia.
B3	Sistema reprodutivo definido indiretamente	Sistema reprodutivo definido apenas com base na morfologia floral e atributos florais observados em campo, fotos, comprovantes de herbário ou literatura geral. Podem incluir observações sobre a hercogamia.
C Atrativos		
C1	Visual	Análise da reflectância floral. Podem incluir registros em câmera de absorção/reflexão UV e percepção dos polinizadores.
C2	Odor	Presença de odor. Podem incluir descrição do odor, análises histoquímicas ou de voláteis.
D Tricomas		
Padrão morfoanatômico de tricomas tectores e secretores presentes nas pétalas ou cálc. Podem incluir análises histoquímicas.		
E Néctar		
E1	Néctar inicial	Análises do néctar em flores isoladas previamente. Podem incluir volume, composição, concentração ou quantidade de açúcares no néctar.
E2	Néctar disponível (stand-crop)	Análises do néctar disponível em flores não isoladas previamente. Podem incluir volume, composição, concentração ou quantidade de açúcares no néctar.
E3	Presença	Relato momentâneo da presença ou ausência de néctar.

Tabela S2. Número de registros de visitantes em espécies de *Pinguicula*, *Genlisea* e *Utricularia* classificados por ordem e família taxonômica em ordem decrescente do número de registros. NI = não identificado.

Gênero	Ordem	Família	Registros		
<i>Pinguicula</i>	Diptera	Syrphidae	17		
		Muscidae	6		
		Bombyliidae	5		
		Empididae	4		
		Anthomyiidae	3		
		NI	2		
		Calliphoridae	1		
		Culicidae	1		
		Curculionidae	1		
		Dolichopidae	1		
		Scathophagidae	1		
		Lepidoptera		Pieridae	10
				Hesperiidae	8
Nymphalidae	5				
Papilionidae	3				
Rhopalocera	3				
Lycaenidae	2				
Sphingidae	2				
NI	2				
Geometridae	1				
Pyralidae	1				
Hymenoptera		Apidae	18		
		Halictidae	6		
		NI	4		
		Andrenidae	1		
		Vespidae	1		
Coleoptera		NI	2		
		Nitidulidae	2		
		Staphylinidae	2		
		Curculionidae	1		
Thysanoptera		NI	4		
		Total	120		
<i>Genlisea</i>	Hymenoptera	Apidae	4		
		Halictidae	2		
		NI	1		
		Megachilidae	1		
		Diptera	NI	3	

		Syrphidae	2
	Lepidoptera	Hesperiidae	1
		Total	14
<i>Utricularia</i>	Lepidoptera	Nymphalidae	25
		Hesperiidae	9
		Lycaenidae	9
		Pieridae	8
		Papilionidae	7
		Noctuidae	6
		Sphingidae	4
		NI	2
		Pyrelidae	1
		Scoliidae	1
		Sphecidae	1
	Hymenoptera	Apidae	24
		Halictidae	11
		Megachilidae	5
		NI	3
		Anthophoridae	1
		Braconidae	1
		Formicidae	1
		Lycaenidae	1
		Mymaridae	1
		Vespidae	1
	Diptera	Bomblyidae	6
		NI	6
		Syrphidae	6
		Ceratopogonidae	3
		Muscidae	2
		Limoniinae (Tipulidae)	1
		Tabanidae	1
	Coleoptera	NI	2
		Curculionidae	1
	Passeriformes	Meliphagidae	3
		Trochilidae	1
	Thysanoptera	NI	1
	Hemiptera	Aphididae	2
		Total	157

Tabela S3. Visitantes legítimos, polinizadores e visitantes ilegítimos registrados em Lentibulariaceae.

Gênero (Categoria)	Referência	Espécie	Visitantes legítimos	Polinizador	Visitante Ilegítimo
			Ordem	Família	Ordem
<i>Pinguicula</i> (A1)	Molau (1993)	<i>P. alpina</i>	Diptera	Syrfidae	Coleoptera
	Villegas & Alcalá (2018)	<i>P. moranensis</i>	Lepidoptera	Pieridae	Hymenoptera, Diptera (Syrfidae)
<i>Pinguicula</i> (A2)	Müller (1881)	<i>P. alpina</i>	Diptera Hymenoptera		Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera
		<i>P. vulgaris</i>	Hymenoptera		Coleoptera, Lepidoptera
	García <i>et al.</i> (1994)	<i>P. longifolia</i>	Lepidoptera Diptera		Coleoptera, Syrfidae
		<i>P. vallisneriifolia</i>	Hymenoptera Diptera Lepidoptera Coleoptera Thysanoptera		alguns Diptera
	Nordin (2015)	<i>P. alpina</i>	Diptera Hymenoptera		
	Molano-Flores <i>et al.</i> (2018)	<i>P. ionantha</i>	Hymenoptera Lepidoptera		
		<i>P. lutea</i>	Hymenoptera Lepidoptera		

<i>Pinguicula</i> (A3)	Shimai (2018)	<i>P. planifolia</i>	Hymenoptera		
		<i>P. macroceras</i>	Hymenoptera		
		<i>P. ramosa</i>	Diptera		besouros
<i>Genlisea</i> (A1)	Aranguren <i>et al.</i> (2018)	<i>G. violacea</i>	Hymenoptera	Apidae	Lepidoptera
			Diptera	Halictidae	
<i>Genlisea</i> (A3)	Fleischmann (2011)	<i>G. stapffi</i>	Hymenoptera		
<i>Utricularia</i> (A1)	Hobbhahn <i>et al.</i> (2006)	<i>U. albocaerulea</i> , <i>U. reticulata</i>	Diptera		
			Hymenoptera	Apidae	
			Lepidoptera		
	Chaudhary <i>et al.</i> (2018)	<i>U. babui</i>	Diptera		
			Hymenoptera	Syrphidae	Bombyliidae
				Apidae	
Rodrigues <i>et al.</i> (em prep.)	<i>U. damazioi</i>	Hymenoptera	Halictidae	Curculionidae, Lepidoptera	
			Sphecidae		

<i>Utricularia</i> (A2)	Clivati <i>et al.</i> (2014)	<i>U. reniformis</i>	Hymenoptera	
	Dolsan <i>et al.</i> (em prep.)	<i>U. neottioides</i>	Diptera	
<i>Utricularia</i> (A3)	Płachno <i>et al.</i> (2018b)	<i>U. foliosa</i>	Hymenoptera	
		<i>U. vulgaris</i>	Diptera	Syrphidae
<i>Utricularia</i> (A5)	Lowrie (2001)	<i>U. menziesii</i>	Passeriforme	

Tabela S4. Distribuição global de registros de visitantes florais. Número de estudos por grupos de pesquisa e publicações de estudos que registraram visitantes florais em Lentibulariaceae.

Gênero	Espécies observadas		Grupos de pesquisa		Publicações	
	País	Nº de registros	País	Nº de registros	País	Nº de registros
<i>Pinguicula</i>	Cuba	6	Espanha	3	Espanha	3
	EUA	4	Brasil	2	México	2
	Espanha	2	Cuba	2	Escócia	2
	Japão	2	EUA	2	Cuba	2
	México	2	México	2	Suécia	2
	Suécia	2	Suécia	2	EUA	2
	Suíça	1	Alemanha	1	Finlândia	1
			Finlândia	1	Japão	1
			Índia	1	Suíça	1
			Japão	1		
		Sri Lanka	1			
<i>Genlisea</i>	Brasil	2	Brasil	1	EUA	1
	Serra Leoa	1	Colômbia	1	Alemanha	1
			Polônia	1		
			Alemanha	1		
<i>Utricularia</i>	Índia	8	Brasil	8	Estados Unidos	6
	Brasil	7	Austrália	6	Alemanha	5

Austrália	6	Polônia	5	Austrália	3
Nova Zelândia	3	Índia	3	Brasil	3
República Checa	1	República Checa	2	Inglaterra	2
Grã Bretanha	1	Alemanha	1	França	1
Guiné	1	Canadá	1	Holanda	1
Japão	1	França	1	Índia	1
Holanda	1	Grã Bretanha	1	Nova Zelândia	1
Polônia	1	Holanda	1	Reino Unido	1
		Inglaterra	1		
		Japão	1		
		Nova Zelândia	1		
		Colômbia	1		

Figura S1. Distribuição de características florais em filogenia de Lentibulariaceae. (A) Sistema reprodutivo, (B) dicogamia.

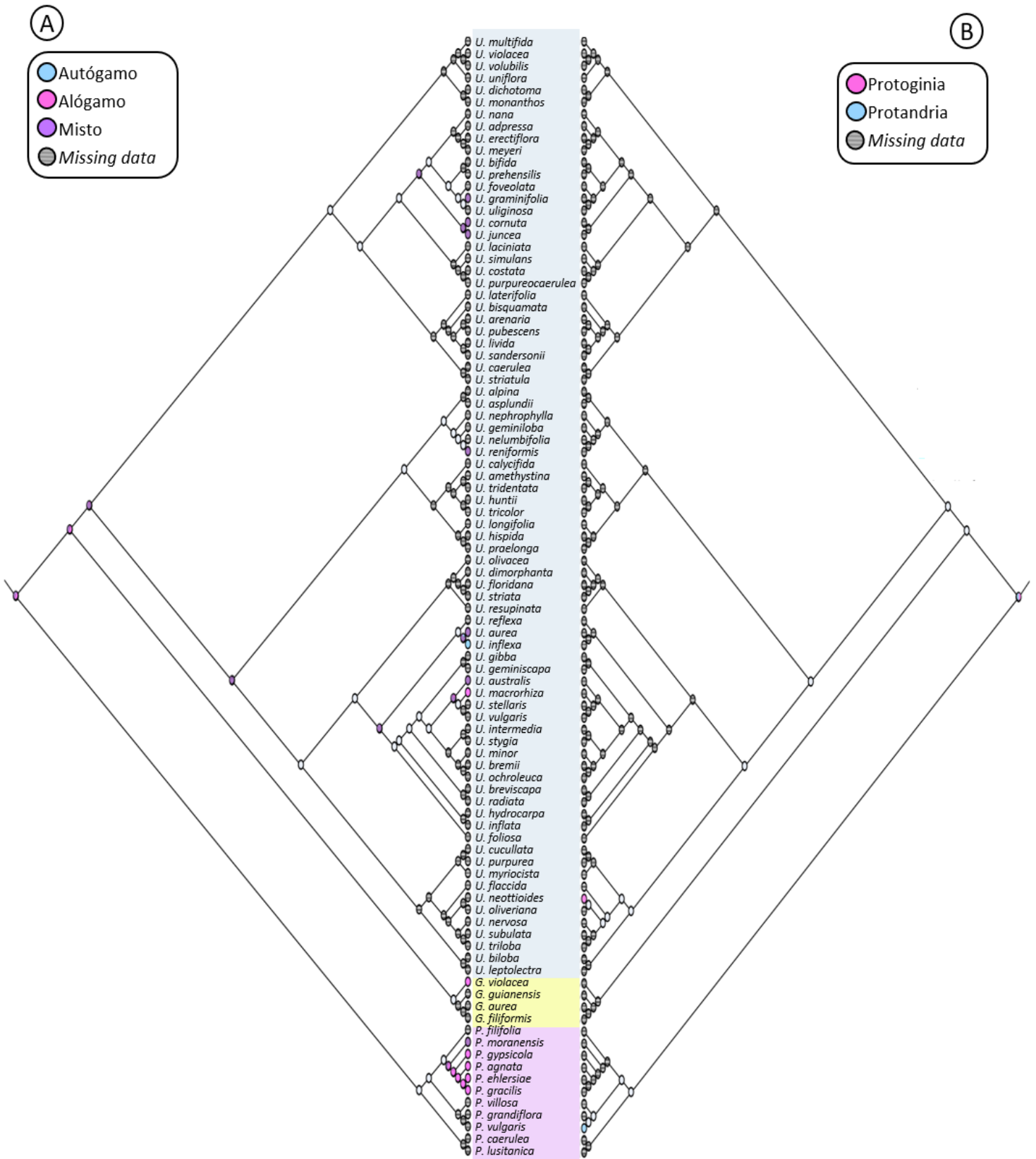


Figura S2. Distribuição de características florais em filogenia de Lentibulariaceae. (A) Presença de hercomamia, (B) tipo de hercogamia.

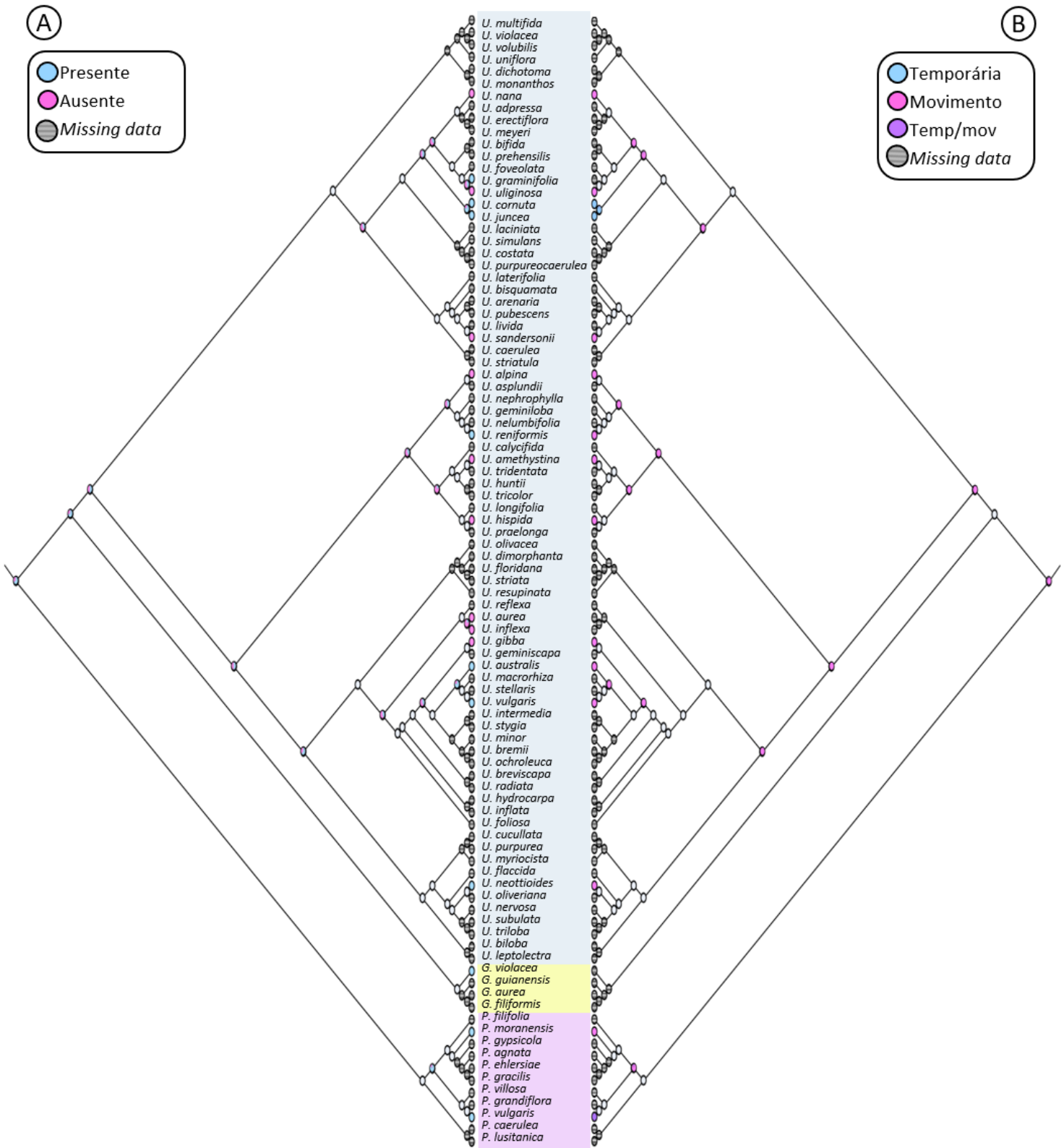


Figura S3. Distribuição de características florais em filogenia de Lentibulariaceae. (A) cor da corola, (B) reflectância UV.

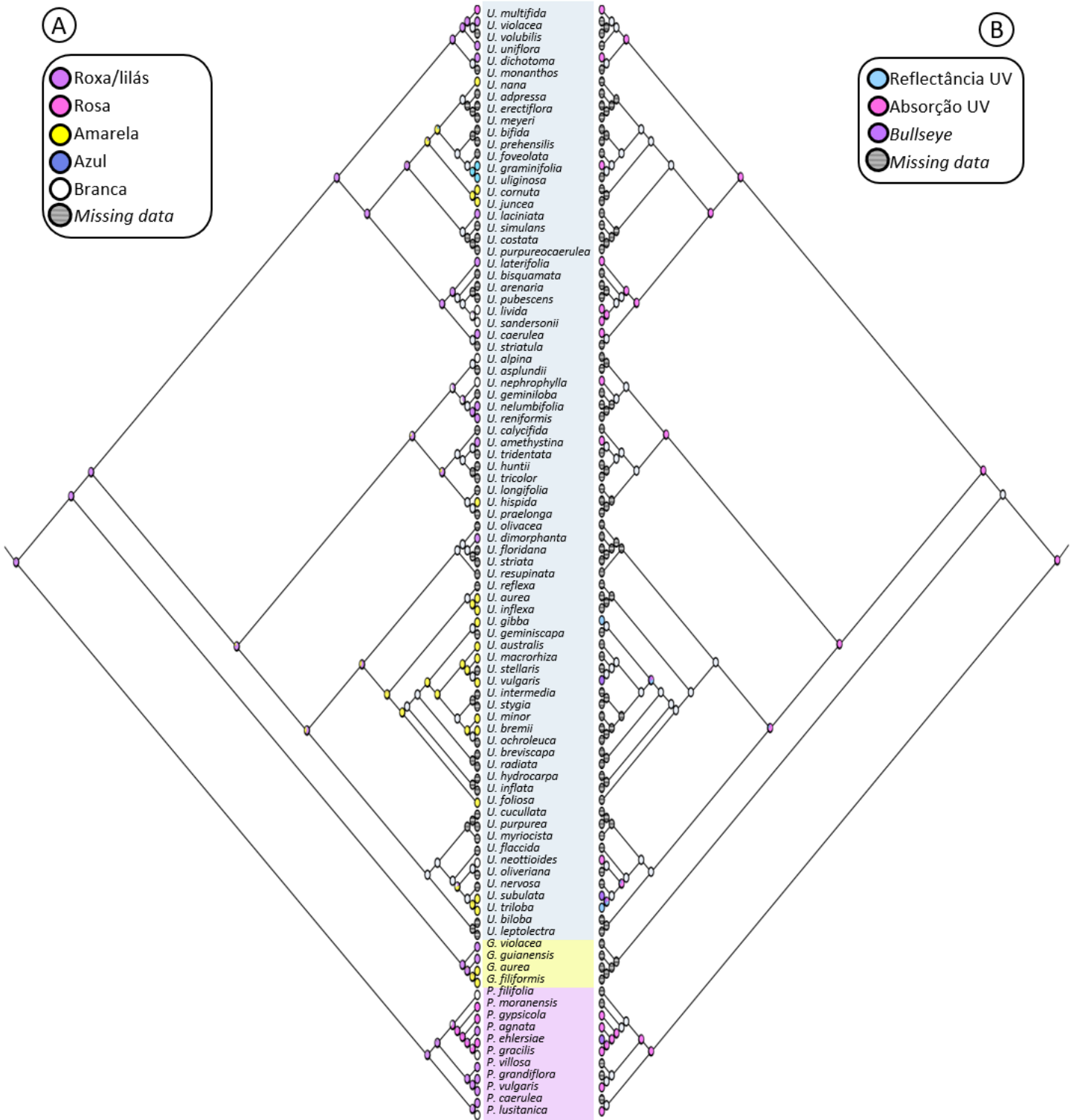


Figura S4. Distribuição de características florais em filogenia de Lentibulariaceae. (A) Presença de odor, (B) composição do néctar.

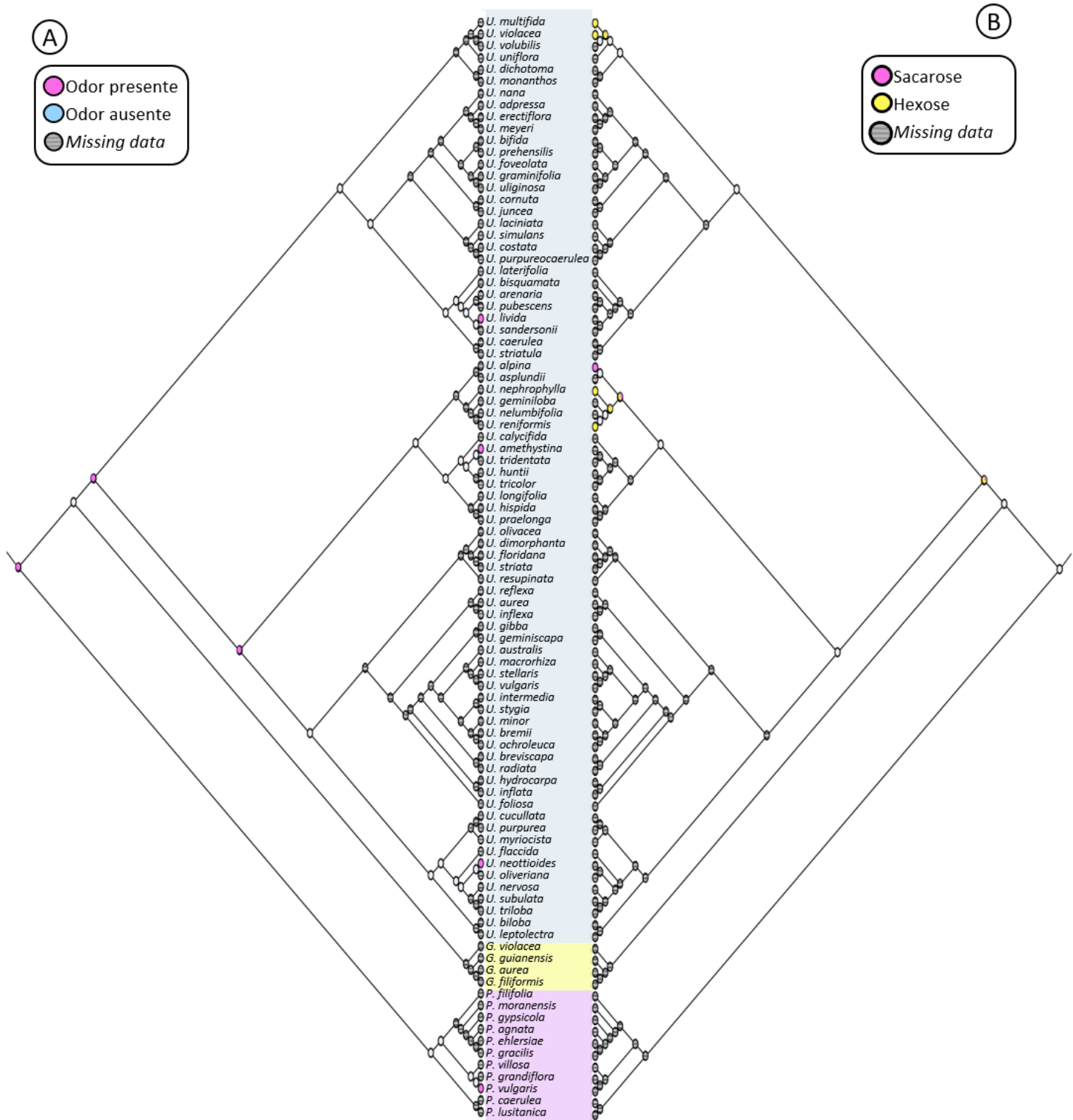


Tabela S5. Número de espécies de Lentibulariaceae em cada categoria de tipo floral com cada legítimo visitante floral ou polinizador. Tu = Tubular, Tp = Tubular com palato piloso conspícuo, Hi = hipocrateriforme, Pc = palato fechado, Po = palato aberto, In = invaginação do palato.

Visitante legítimo	Tipos florais					
	Tu	Tp	Hi	Pc	Po	In
Abelha	5	3	1	8	0	0
Borboleta	2	0	0	3	0	0
Mosca	4	0	1	4	1	1
Pássaro	0	0	0	1	0	0
Curculionidae	1	0	0	0	0	0
Tripsidae	1	0	0	0	0	0
Polinizador						
Abelha	0	NA	1	5	0	NA
Borboleta	1	NA	0	1	0	NA
Mosca	1	NA	0	1	1	NA
Pássaro	0	NA	0	0	0	NA

- 1 **Tabela S6.** Número de espécies de Lentibulariaceae em cada cor de corola com cada legítimo
- 2 visitante floral ou polinizador. Wh = branco a creme, Ye = amarelo, Re = vermelho, Pu = roxo
- 3 a azulado.

Visitante legítimo	Cor da corola			
	Wh	Ye	Re	Pu
Abelha	3	2	0	12
Borboleta	2	1	0	5
Mosca	4	1	0	8
Pássaro	0	0	1	0
Curculionidae	1	0	0	0
Tripsidae	1	0	0	0
Polinizador				
Abelha	0	0	NA	6
Borboleta	0	0	NA	2
Mosca	1	1	NA	1
Pássaro	0	0	NA	0

4

1 **Tabela S7.** Número de espécies de Lentibulariaceae na categoria UV de cada visitante floral
2 legítimo. Não há resultados suficientes para polinizadores. UV- = absorção de UV, BE =
3 *bullseye*. Os dados de refletância UV estão disponíveis apenas para grupos de visitantes
4 legítimos.

5

Visitantes legítimos	UV-	BE
Abelha	4	0
Borboleta	2	0
Mosca	3	1

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

1 **CAPÍTULO 2: Sexual reproduction of the carnivorous plant *Utricularia damazioi***
2 **Beauverd (Lentibulariaceae)**

3

4 Capítulo submetido ao periódico Plant Biology (anexo da submissão ao final do capítulo)

5

6

7 RESEARCH ARTICLE

8 **Sexual reproduction of the carnivorous plant *Utricularia damazioi* Beauverd**
9 **(Lentibulariaceae)**

10

11 Fernanda G. Rodrigues^{1,2*}, Hugo Dolsan^{1,2}, Priscila Tunes², Elza Guimarães² and Vitor F. O.
12 Miranda^{1,2}

13

14 ¹ Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
15 Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, Jaboticabal, São Paulo, Brazil;

16 ² Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu, São Paulo,
17 Brazil;

18

19 *fernanda.gomesrodrigues@hotmail.com

20

21 **Running title:** Reproductive flexibility of *Utricularia damazioi*.

22

23

1 **ABSTRACT**

2 *Utricularia* L. presents complex flowers, but studies related to sexual reproduction are scarce.
3 *Utricularia damazioi* is incorporated into *U. amethystina* s.l., but its recognition as a species is
4 supported by morphology, DNA sequences and geographic distribution. *Utricularia damazioi*
5 occurs in *campos rupestres* (rupestrian fields) and presents flowers with coloring ranging from
6 fuchsia to lilac. We elucidate how this species maintains itself in isolated environments,
7 assessing whether there is pollinator dependence to and which floral traits are important for
8 reproductive success. We followed changes in the color, odor, and reproductive organs
9 disposition during anthesis. We determined the reproductive system through pollination tests
10 and recorded the floral visitor's behavior. We compared the corolla morphometry to the floral
11 visitors, selecting important traits for the flower-pollinator coupling. We measured the floral
12 reflectance with a spectrophotometer to evaluated whether changes in corolla color are
13 perceptible to the bees and whether spots act as floral guides. *Utricularia damazioi* presents
14 protogyny and approach herkogamy. The non-discrimination of corolla color changes by bees
15 promotes cross-fertilization at the anthesis beginning, when the flowers are functionally female
16 and prevents geitonogamy among functionally hermaphrodite flowers. Small and medium-
17 sized bees are effective pollinators due to their size and behavior. When cross-pollination does
18 not occur, delayed selfing pollination can occur. *U. damazioi* relies with the seeds production
19 by self-fertilization on the pollination vectors absence and genetic diversity increases in their
20 presence, maintaining floral traits attractive. This flexibility represents a greater possibility of
21 maintaining isolated populations.

22 **Keywords:** delayed selfing, flower-pollinator coupling, floral reflectance, herkogamy,
23 nototribic pollen deposition.

24

25

1 INTRODUCTION

2 *Utricularia* L. (Lentibulariaceae) is one of the most numerous genera of carnivorous
3 plants, presenting around 250 cosmopolitan species, absent at the poles, desert areas and
4 oceanic islands (Taylor 1989; Cross *et al.* 2020). The traps, called utricles, are leaf
5 modifications of greater complexity and speed among carnivorous plants (Poppinga *et al.* 2016,
6 2017; Westermeier *et al.* 2017; Whitewoods *et al.* 2020).

7 *Utricularia* species occupy the greatest diversity of habitats (aquatic, terrestrial,
8 epiphytic and lithophytic) when compared to other Lentibulariaceae genera (Taylor 1989;
9 Ellison & Adamec 2018). In addition, they do not present clear boundaries between the
10 vegetative organs and fit into the FAM morphology (*Fuzzy Arberian Morphology*) (Rutishauser
11 & Isler 2001; Rutishauser 2016, 2020; Reut & Płachno 2022). High mutational rates are also
12 recorded in their genomes (Jobson & Albert 2002; Albert *et al.* 2010). Thus, several species are
13 proposed as model organisms in several areas. However, studies on the reproductive system
14 and pollination ecology, important for a better understanding of the species biology and
15 preservation, are scarce in the genus (Miranda *et al.* 2021).

16 In reproductive biology, a great color variety of zygomorphic corollas is observed in
17 *Utricularia*, with these bilabial corollas in a maw shape, calcarated, often with contrasting floral
18 guides (Taylor 1989; McPherson 2010). The flowers are hermaphrodites and can show an
19 approach herkogamy, with spatial separation of reproductive organs (anthers below the lower
20 lip of the stigma), so that the stigma is presented to the pollinator before the anthers (Webb &
21 Lloyd 1986). Movement herkogamy (Clivati *et al.* 2014), temporary herkogamy (Chaudhary *et*
22 *al.* 2018) or absence of herkogamy (Jérémie 1989) can also occur.

23 Due to the bilabial corolla, zygomorphic in the gullet shape and calcar with nectar
24 production, *Utricularia* flowers often fit the bee pollination syndrome *sensu* Faegri & van der
25 Pijl (1966). However, recent studies have shown that beyond bees, there are participation of

1 butterflies, moths, wasps, flies and birds as effective pollinators in *Utricularia* species
2 (Keighery 1982; Hobbhahn *et al.* 2006; Clivati *et al.* 2014; Chaudhary *et al.* 2018).

3 *Utricularia damazioi* Beauverd is among the synonymized names of the binomial *U.*
4 *amethystina* Salzm. ex A.St.- Hil. (Taylor 1989), treated as a species complex in this work as
5 *U. amethystina s.l.*. The *U. amethystina* holotype has a tiny purple corolla (~0.8 cm long) with
6 yellow floral guides, cream spur and is distributed in the North and Northeast states of Brazil,
7 in the Atlantic Forest (Guedes *et al.* 2021). However, when considering the species of the
8 complex, there are variations in corolla color, size and shape (Taylor 1989).

9 Another pattern that corroborates the distinct species recognition within the complex is
10 the disjunct distribution of *U. amethystina s.l.*. Species in the complex occur widely in warmer
11 Neotropics regions in hydromorphic soil habitats, from Florida (USA) to southeastern Brazil
12 (Taylor 1989, Miranda *et al.* 2015; Guedes *et al.* 2020).

13 The morphotypes within the complex, historically treated as species (Taylor 1989), do
14 not have completely known geographical circumscriptions, partly because they have been
15 treated in the past three decades as a single species. In Brazil, there are records in different
16 phytogeographic domains in the North, Northeast, Midwest and Southeast regions, with more
17 contrasting morphological variations in geographically isolated and mountainous regions, such
18 as *campos rupestres* (Baleeiro *et al.* 2016, Miranda *et al.* 2015; Guedes *et al.* 2020).

19 Due to morphological intersections, 31 binomials were grouped by Taylor (1989) as
20 synonyms for the species. Recent studies supported by sequence-based phylogeny of three
21 plastid regions (*rps16*, *trnL-F*, *trnD-T*) and ribosomal nuclear ITS, in addition to morphological
22 differences, suggest that *U. amethystina* is a species complex with at least eight differentiated
23 morphotypes from the holotype (Baleeiro *et al.* 2016, 2019; Silva *et al.* 2019; Guedes *et al.*
24 2021).

1 *Utricularia damazioi* is one of the few morphotypes that presents mass flowering and a
2 larger corolla compared to the others (pers. obs., Baleeiro *et al.* 2022). Furthermore, differs
3 from *U. amethystina*, mainly because it is annual, has a larger entire lilac corolla (~ 2 cm long)
4 with a prominent and deeply trilobed lower lip, occur in high altitudes regions (~1000 m alt.)
5 in areas of *campos rupestres* in the Cerrado domain, with records in the states of Bahia, Goiás
6 and Minas Gerais (Baleeiro *et al.* 2016, 2019, 2022, Menezes 2015).

7 The high morphological variation in these species may occur due to geographic
8 isolation, as the *campos rupestres* vegetation presents many microenvironments and occurs in
9 fragments of several phytogeographic domains (Silveira *et al.* 2016; Miola *et al.* 2021). In
10 addition, even though they have infertile soils, the *campos rupestres* together with their
11 ancestral origin and mild climate act as environmental filters responsible for high diversity and
12 endemism due to old, climatically buffered and infertile landscapes (OCBIL theory) (Hopper
13 2009; Miola *et al.* 2021), representing an important biodiversity hotspot in Brazil (Silveira *et*
14 *al.* 2016).

15 In Brazilian *campos rupestres*, the Lentibulariaceae family is represented by at least 14
16 *Genlisea* and 30 species of *Utricularia*, 11 of which are endemic to each genus (Guedes *et al.*
17 2022). Carnivory has become a common strategy in this type vegetation due to seasonal soil
18 moisture and nutrient shortages (Oliveira *et al.* 2016). However, the *campos rupestres* are the
19 most critical biodiversity hotspot in Brazil because they suffer from various threats such as
20 agriculture, mining and unsustainable tourism, so conservation proposals are urgent (Fernandes
21 *et al.* 2020). Thus, we emphasize the importance of *U. damazioi* reproductive biology
22 knowledge, considering its conservation and the genetic variability maintenance in natural
23 populations, to contribute to biodiversity conservation strategies.

24 Furthermore, the morphotypes of *U. amethystina s.l.* can co-occur and not all have floral
25 characteristics associated with pollination by bees (Baleeiro *et al.* 2016; Silva *et al.* 2016).

1 *Utricularia hirtella* has a tiny white corolla and is phylogenetically distant from *U. damazioi*,
2 however, both are commonly observed co-occurring and co-flowering in *campos rupestres*
3 (Baleeiro *et al.* 2022). Thus, information about pollination and the reproductive system is
4 essential to allow us to investigate in the future whether there is reproductive isolation between
5 such morphotypes, and whether this may acting as a speciation mechanism. In this way, the
6 present study constitutes the initial step to unravel possible mechanisms of reproductive
7 isolation acting among the *U. amethystina s.l.* morphotypes.

8 In this way, we aimed to elucidate how *U. damazioi* maintains itself in these isolated
9 environments by studying the breeding system and the relationship of this species with floral
10 visitors. Specifically, we sought to understand (1) if there is dependence on pollinators, as
11 annual plants tend to be self-pollinated (Munoz *et al.* 2016); (2) whether there is late self-
12 pollination, as in some species in the family this can occur (Chaudhary *et al.* 2018); (3) effective
13 pollinators are bees due to morphological similarities with species pollinated by bees and (4)
14 whether corolla color patterns can function as floral attractants for effective pollinators.

15

16 **MATERIALS AND METHODS**

17 **Location of populations and study species**

18 The study was carried out in two *U. damazioi* populations located in *campus rupestres*
19 vegetation on the Cerrado. Population 1 is located at Serra da Canastra National Park, in the
20 São Roque de Minas (MG) municipality in 1,458 m altitude (total area of ~39,000 m²)
21 (collection license ICMBio / MMA / SISBIO n° 70131-1). Population 2 is located at Serra do
22 Cipó National Park, south of the Espinhaço Range, in the Santana do Riacho (MG) municipality
23 on an altitude of 1,358 m (total area of ~21,000 m²) (collection license ICMBio / MMA /
24 SISBIO n° 76942-1) (Appendix S1). The populations are distant from each other by 327.63 km,
25 and the climate is considered high-altitude subtropical (Cwb) (Köppen 1948).

1 We studied the populations during the flowering time, on wet and hot seasons (summer),
2 from February to March 2020 and January to February 2021. The core material of both
3 populations is deposited in the JABU Herbarium, located at the University of Paulista State
4 (Unesp), Jaboticabal (Brazil).

5 *Utricularia damazioi* is a terrestrial herbaceous that presents petiolate leaves arranged
6 in a rosette (Fig. 1a), can reproduce vegetatively by stolons and sexually. The flowering occurs
7 annually in hot and humid seasons (pers. obs., Baleeiro *et al.* 2022) resulting in dehiscent
8 capsules and possibly anemochoric (Taylor 1989) and hydrochoric (Menezes *et al.* 2014) seeds.
9 The studied populations have fuchsia to lilac corolla flowers, a lower lip deeply trilobed,
10 gibbous palate with two crests with yellow spots with white outlines (Fig. 1b), and approach
11 herkogamy (Fig. 1c).

12

13 **Floral biology**

14 Such as other species in the genus, *U. damazioi* can be propagated by vegetative
15 reproduction through stolons (Taylor, 1989). In this way, we established individual
16 inflorescences with a minimum distance of 1 m from each other, to minimize the possibility of
17 resampling clones. We unsystematically marked one pre-anthesis bud (1 day before flower
18 opening) per individual (n = 10) to describe events during anthesis and determine its duration.
19 Likewise, stigmatic surface receptivity evaluation was performed in pre-anthesis buds (n = 10)
20 and newly opened flowers (~2 days after corolla opening, flowers with open anthers) (n = 10)
21 using 3% hydrogen peroxide (Dafni *et al.* 2005).

22 We recorded the anthesis time and color changes, and monitored the floral odor presence
23 through an organoleptic test (Dafni *et al.* 2005). A different set of three flowers (n = 3
24 individuals) was stored in a Falcon tube every hour during the observation period and the odor

1 was evaluated after about three minutes of storage, by two people, on two non-consecutive
2 days.

3

4 **Breeding system**

5 In population 2, we performed breeding system tests in one flower per individual using
6 flowers previously isolated by voile bags since pre-anthesis to ensure the flowers were intact
7 and not fertilized at the follow tests application: (1) spontaneous self-pollination (n = 20), which
8 we kept the flowers isolated until abscission or fruit formation; (2) manual self-pollination (n =
9 17), where after the complete corolla opening and anther dehiscence manual self-pollinations
10 were performed with pollen from the same flower; (3) cross-pollination (n = 15), which as soon
11 as the corollas opened we removed the anthers and pollinated these flowers with a pollen
12 mixture from 2 to 3 individuals in the hermaphrodite phase, at least 10 m apart; (4) open
13 pollination (control, n = 17), which we followed a group of individuals exposed to natural
14 pollination in the field; and (5) apomixis (n = 6 individuals cultivated in a greenhouse), through
15 emasculation still in the seedling phase bud to avoid contamination because in greenhouse the
16 anthers opened early, before or during the flowers opening.

17 In the manual self-pollination and cross-pollination treatments, we deposited the pollen
18 on the receptive stigma with the aid of toothpicks. Self-fertility (SF) and self-compatibility (SC)
19 indices were calculated according to Lloyd & Schoen (1992).

20

21 **Floral visitors**

22 Due to the unequal flowering individuals distribution in the populations we established
23 observation sites that had the highest density of open flowers per m², at least 5 m apart. The
24 observations occurred between 06:00 and 18:00, totaling 223 h and were distributed in
25 population 1 for 148 h on seven observation sites, from February 20 to March 19 of 2020, and

1 in population 2 for 75 hours on two locals, from January 28 to February 13 of 2021 (Appendix
2 S2).

3 During the periods of observations the temperature and rainfall average in population 1
4 were 19 ± 2.6 °C (min. 14.3 °C; max. 28°C) and 832 ± 118.7 mm (min. 588 mm / max. 963
5 mm), respectively (Source: CEMIG meteorological station) and in population 2 of 22 ± 2.55
6 °C (min. 19 °C; max. 30 °C) and 19 ± 15.5 mm (min. 1 mm; max. 42 mm), respectively (Source:
7 PARNA Cipó meteorological station).

8 For each floral visitor the behavior was recorded through the total number of flowers
9 visited per shift, the visits per population relative frequency and the time spent on each flower.
10 The number of flowers visited was represented graphically as a function of the observation time
11 and place on the population by a LOESS regression with 95% confidence intervals, using the
12 “msir” package (Scrucca 2011) in R statistical software (R Core Team 2022).

13 Whenever possible, visitors were photographed and captured for taxonomic
14 identification, to quantify pollen load and to perform morphometric analyses. We consider
15 legitimate visitors those who presented expected dimensions and behaviors associated with the
16 flower coupling to be in contact with the reproductive organs and consequently perform the
17 pollination (Freitas 2018).

18 In addition to floral visitors behavior, we consider the following variables together to
19 establish the ecological visitors role and the pollinators efficiency:

20 1) The behavior of each visitor on search for floral resources (nectar)

21 2) Compatibility among visitor and flower dimensions

22 3) Pollinator performance, assessed by 'efficacy' on pollen deposition successful,
23 estimated by the amount and location of *U. damazioi* pollen adhered to each visitor body
24 (Ne'eman *et al.* 2009), which reinforces informations about the coupling.

1 To verify the pollen charge in captured visitors in the two populations, we made
2 permanent slides with pollen removed from the following insects' parts: (1) head, (2) thorax,
3 (3) legs and (4) proboscis. For each insect part the pollen was collected with the aid of a small
4 brush. To avoid pollen grains losses that eventually were retained or detached from the insect's
5 body, we also made slides with (5) body washing and (6) the recipient washing where the insect
6 was stored, both with 100% ethanol. The insects dry weight were also measured to classify
7 them together with the total size.

8

9 **Morphometric analyzes**

10 In population 2 we performed flower morphometric analyzes to verify differences
11 among two floral phases observed during anthesis: (1) flower in female phase (receptive stigma
12 and closed anthers) (n= 16 individuals) and (2) flower in hermaphrodite phase (receptive stigma
13 and open anthers with exposed pollen) (n = 16 individuals).

14 We collected the flowers unsystematically in population 2 and fixed them in 70%
15 ethanol. We used the Olympus SZX7 stereoscope equipped with an Olympus DP26 digital
16 camera and the CellSens 1.8 image analyzer (Olympus) for following length and width
17 measurements: total corolla, upper lip, lower lip, palate, ridges, spur; perimeter of the entrance
18 of the calcar. We also measured the distance between anthers and stigma and distance among
19 these and the lower lip (Fig. 2). We tested the data normality using the Shapiro-Wilk test
20 (Shapiro & Wilk 1965) and compared the variables sampled among the two flower phases with
21 parametric Student t-statistics and non-parametric Mann-Whitney tests (Wilcoxon 1945; Mann
22 & Whitney 1947), considering p-value < 0.05 significant.

23 In addition, we measured important structures for flower-pollinator coupling in the
24 insects of the two populations: proboscis length and width, head and thorax dorsiventral
25 perimeters, and head and thorax dorsiventral thickness for each floral visitor.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

UV color and pattern

We observed in the two populations that the color of *U. damazioi* corolla changes throughout anthesis, ranging from fuchsia in the bud and newly opened flower stages to lilac in approximately two days until senescence. We tested in population 1 whether the two colors match the bees' vision, whether both corolla colors are distinguishable from the environment, and whether the ridges spots contrast with the petals in both cases, which would characterize them as visual floral guides.

We measured the reflectance on the flower lower lips and yellow ridges portions with a spectrophotometer at wavelengths between 300 and 700 nm (Jaz UV / Vis, Ocean Optics Inc., Florida, USA) of population 1. We use the color hexagon (Chittka & Menzel 1992) as a color space model for the interpretation of how flowers are perceived from the bees trichromatic vision. To compute the colors loci in the color hexagon we used the default backgrounds for green leaves (AV 4000) and for daytime lighting (D65). We use photoreceptors excitation of *Bombus terrestris* (Peitsch *et al.* 1992) to represent the bees spectral sensitivity, once that there is no data for the native bee species of the studied area.

We calculate the distance (in hexagon units, Chittka e Menzel 1992) among the petals color loci of fuchsia and lilac flowers, between the petals and the background, and between the petals color loci and the ridges, considering the bees perception threshold of 0.27 JND (Just Noticeable Differences). These analyzes were conducted with the “pavo” package (Maia *et al.* 2013) in R statistical software (R Core Team 2022). Additionally, we used a photographic camera with a modified sensor, exclusively allowing the light capture at UV wavelengths (340 - 400 nm), so that it was possible through photography to identify UV corolla patterns.

1

2 **RESULTS**

3 **Floral biology**

4 The flowers of *Utricularia damazioi* showed protogyny and approach herkogamy. The
5 stigma was already receptive from the pre-anthesis phase (bud) and remained in open flowers
6 (~2 days after corolla opening) when the anthers were already open. Anthesis lasted an average
7 of 6 ± 2.7 days.

8 The corolla opening begins with the spur extension and is completed in ~24 hours
9 (Appendix S3). At this stage, the flower is functionally female because the stigma is receptive,
10 however, the thecae dehiscence have not yet occurred (Appendix S3). The anthers dehiscence
11 begins ~24 to 48 hours after the complete corolla opening when the pollen becomes available
12 and the stigma remains receptive, characterizing this floral phase as functionally hermaphrodite
13 (Fig. 1c). During the bud phase and for about two days after the flower opening the corolla has
14 fuchsia color, and after this, the color changes through lilac gradients (Fig. 1b). The
15 inflorescence is racemose, and may simultaneously present capsule, immature fruit, flower and
16 bud stages in ascending sequence, varying from 6 to 30 cm (Fig. 1a). Inflorescences rarely have
17 more than one open flower simultaneously.

18

19 **Reproductive system**

20 The spontaneous and manual self-pollination treatments in *U. damazioi* resulted in a
21 high fruiting percentage, with self-fertility (SFI = 0.95) and self-compatibility (SCI = 1.00)
22 values. The reproductive system is mixed, with no difference between manual self-pollination
23 and manual cross-pollination treatments, both with 100% in the fruit set (Table 1). In
24 individuals manually pollinated (self and cross-pollination), the flowers entered in senescence
25 (Appendix S3g), on average 4 ± 1.8 days after treatment application. The beginning of fruit

1 development, indicated by ovary swelling after the corolla fall, was observed on average $8 \pm$
2 2.7 days after treatment.

3

4 **Floral visitors**

5 In both populations, the highest visits frequency to *U. damazioi* occurred between 10:00
6 am and 3:00 pm, when the presence of a more prominent sweet odor, similar to cinnamon, was
7 noted. Wasps (Hymenoptera) and flies (Diptera: Syrphidae and Muscidae) were rarely recorded
8 and used the flower only as a landing platform. Hymenoptera (Apidae, Andrenidae, Halictidae,
9 Megachilidae), Lepidoptera (Hesperiidae), and Coleoptera (Curculionidae) made legitimate
10 visits (Fig. 3).

11 Among legitimate visitors, four bee species from the Augochlorini tribe and two other
12 unidentified Andrenidae species showed similar behavior. For the present study, we classified
13 these bees as small (Fig. 3a, 3b) (~6 mm in length and <0.001g dry weight), except
14 *Augochloropsis* sp. 3, which is medium-sized (Fig. 3c) (10.6 mm in length and 0.015 g in dry
15 weight).

16 The small bees were seen in flight or walking on the ground when approaching the
17 observation sites. These rose along the inflorescence axis to the corolla, where they remained
18 on the palate (~5s), opened the corolla by pushing the palate downwards, entered the spur with
19 all or part of the thorax, touching the reproductive organs (Fig. 3b, detail 3c). When leaving the
20 flowers, the bees showed a massive pollen deposition in the dorsal region of the thorax and
21 head (Fig. 3a, 3c, 4a, 4b). The peak visits occurred between 11:00 am and 2:00 pm (Appendix
22 S4, S5) when the bees visited ~3 flowers within a radius of ~1 m by shift. The relative frequency
23 of visits was low (~2.7%) and both Andrenidae and Augochlonini moved away as the observer
24 approached.

1 In comparison with the other visitors, two species of the Augochlorini tribe (*Augochlora*
2 *sp.* and *Augochloropsis sp.* 1) remained longer in contact with the reproductive organs (20 and
3 30s on average, respectively) (Table 2) and *Augochlora sp.* presented repetitive distension
4 movements of the tongue on the palate.

5 Among medium-sized bees that made legitimate visits, *Apis mellifera* (11 mm long,
6 0.017 g dry weight) was observed in both populations. This bee landed on the palate and quickly
7 opened the corolla pushing it down. *Apis mellifera* inserted the head into the spur, touching the
8 reproductive organs (Fig. 3d). The head site presented the highest concentration of pollen in
9 this species (61%, Fig. 4c). The peak of visits occurred at 2:00 pm in population 1, and 9:00 am
10 in population 2 (Appendix S4, S5). Visits occurred on ~5 flowers (population 2) and ~12
11 flowers (population 1), within a radius of ~2 m. *Apis mellifera* were the bees that had the highest
12 relative frequencies in the two populations (~18% and ~61%) and stayed a short time (~3s) in
13 contact with the reproductive organs (Table 2).

14 Large bees that performed legitimate visits were *Centris sp.* (16.6 mm in length and
15 0.106 g of dry weight), *Centris (Hemisiella) tarsata* Smith (11.6 mm in length and 0.026 g of
16 dry weight), and *Megachile sp.*. The *Centris* bees presented similar behavior, grabbing to the
17 palate, opening the corolla and inserting the head towards the spur entrance, touching the
18 reproductive organs (Fig. 3e). The head was the body region that concentrated the highest pollen
19 amount (59%, Fig. 4d). Visits were concentrated between 10:00 am and 12:00 pm (Appendix
20 S4), when these bees visited ~18 flowers within a ~4 m radius, spending little time in contact
21 with the reproductive organs at each visit (~2-3s). *Centris sp.* had the highest relative frequency
22 of the number of flowers visited (~40%) (Table 2).

23 *Megachile sp.* was observed in a single shift, visiting ten flowers. This bee, in flight,
24 projected its tongue towards the corolla and forced the opening by inserting its head between
25 the corolla's lower and upper lips, and touching the reproductive organs with the head front

1 without landing the flower (Fig. 3f). The visits occurred at 10:40 am (Appendix S4). *Megachile*
2 sp. visited nearby flowers within a ~2 m radius and stayed in the flowers for a short time (~3 s)
3 (Table 2). This species was not collected for pollen quantity assessment.

4 Curculionidae sp. was seen walking on the lower lip and completely entering the flower,
5 which made it impossible to visualize the contact with the reproductive organs, leaving after
6 ~10 s. They were seen in both populations, but only once in each, visiting a single flower (Table
7 2). A low pollen amount was found in the body of a collected individual (Fig. 4e).

8 Two species of Lepidoptera, Hesperidae sp. and *Synale elana elana* Plötz, 'groped' the
9 palate with the proboscis and inserted it towards the spur, remaining ~ 6 s per flower (Fig. 3g).
10 It was not possible to visualize whether the proboscis touched the reproductive organs.
11 Hesperidae sp. was the visitor who performed the highest shift number (n = 14) among all
12 visitors and presented a similar relative frequency to *Apis* (~18%) (Table 2). The peak of
13 Hesperidae sp. occurred between 12:00 and 15:00 (Appendix S4). The species visited ~2
14 flowers within a ~2 m radius. We found a low pollen amount in the collected individuals, all
15 located on the proboscis (Fig. 4f).

16 The higher flowering plant density at the observation sites probably increased
17 attractiveness through the higher floral announcement, because it was directly proportional to
18 the visit number and visitors' taxonomic diversity (Appendix S1). The observation sites within
19 each population that received fewer visits, in addition to lower open flowers density, were closer
20 to anthropized areas: in both population 1 in locals close to ~35 m of the PARNA Serra da
21 Canastra road and population 2, all the observation sites were close to ~300 m from the MG-
22 010 highway, which has an intense vehicles flow.

23

1 **Floral morphometry**

2 We observed significant differences between female and hermaphrodite flowers in most
3 of the characters measured, except the palate width, the ridges, and the distance between the
4 stigma lateral and anthers (Appendix S6). Character dimensions were larger in flowers in the
5 hermaphrodite phase, probably due to the longer anthesis and subsequent flower development
6 (Fig.1b).

7 We observed a distance decrease between the stigma medial portion and the anthers
8 along the anthesis (Appendix S6g). This distance was zero in one individual, showing that it
9 may become less pronounced during anthesis and may even lead to a herkogamy loss in this
10 species.

11 The lateral and medial portions of the stigma lower lip showed different conformations.
12 In the female phase of some individuals, the stigma was folded up ($n = 7$), so the receptive
13 medial portion was well away from the anthers, while the lateral portion was not; this position
14 was also found in flowers during the hermaphrodite phase, but in lower samples ($n = 2$). The
15 folded up position of the stigma was reflected in the space decrease between the stigma and the
16 lower lip, which in these flowers was null because the entire non-receptive stigma part stayed
17 in contact with the lower lip.

18 19 **Flower-pollinator coupling**

20 Hesperiidae sp. was the only visitor to have a longer proboscis than the spur (Fig.5a),
21 which facilitated access to the spur bottom without the need to insert other body parts into the
22 corolla. The spur opening perimeter on the two phases (female and hermaphrodite) allows the
23 head and thorax entry of smaller bees, *Augochloropsis* sp. 3, medium-sized bees, and
24 Curculionidae (Fig. 5b, 5c). Bees with a head perimeter greater than the spur entrance could

1 insert only part of the head, like *Apis mellifera*, so this was a limiting factor for them to penetrate
2 deeper into the corolla looking for resources (Fig. 5b, 5c).

3 In both floral phases, we observed that the minimum dorsiventral thickness, needed for
4 the inserted structure by the visitor in the spur opening for the legitimate visit, is achieved by
5 all visitors, except the Hesperidae sp proboscis. This is only sufficiently thick to touch the
6 stigma, with more probability to occur in flowers in the female phase (Fig. 6a).

7 Thus, the pollen charge found in small bees and *Augochloropsis* sp. 3 (medium size)
8 was similar in the head and thorax regions, except *Augochloropsis* sp. 1 (small size) did not
9 present pollen, even having adequate dimensions to touch the anthers (Fig. 6a, 6b).

10 In *Apis*, the pollen charge was higher in the head region. We found significant pollen
11 amounts on all bee's legs as well. Hesperidae sp. showed only two *U. damazioi* pollen grains
12 on the proboscis and Curculionidae presented one that emerged from washing the insect body
13 with 100% ethanol, after analysis under a stereomicroscope (Fig. 4).

14 We emphasize that the two species of Andrenidae and *Apis mellifera* from population 2
15 suffered contamination by mites, which may have compromised the remaining amount of the
16 original pollen charge in specific specimens body places. In addition, it is possible that insects
17 that presented little or no pollen (such as *Augochloropsis* sp. 1, Hesperidae sp., and
18 Curculionidae sp.) were captured on their first visits of the day, or visiting flowers in the female
19 phase, still without pollen available.

20

21 **UV color and pattern**

22 Fuchsia and lilac flowers showed reflectance curves with similar patterns (Fig. 7a, 7b,
23 respectively), with peaks between 400-500 nm and 600-700 nm. Fuchsia flowers achieved
24 higher reflectance percentages in the 600-700 nm range. However, when represented in the

1 color hexagon, the fuchsia and lilac flowers occupied the same hexagon region, exciting the
2 blue photoreceptor of the bees (Fig. 7c).

3 Both flower sets are chromatically and achromatically discriminated from the
4 background by the bees; however, bees can only discriminate between fuchsia and lilac flowers
5 achromatically, with no difference in color contrast (Appendix S7).

6 The yellow ridges spots of both flowers sets show reflectance curves with similar
7 patterns, with a peak between 500-700 nm (Fig. 7d, 7e), mainly exciting the bee's green
8 photoreceptor (Fig. 7f). They are discriminated from the rest of flower by bees chromatically
9 and achromatically in both fuchsia and lilac flower sets (Appendix S7). Additionally, we found
10 the entire corolla reflects wavelengths between 300 and 400 nm, corresponding to the UV color,
11 but this reflection is less than 5% and does not show a UV reflection pattern (Appendix S8).

12

13 **DISCUSSION**

14 **Reproductive flexibility of *Utricularia damazioi***

15 In *Utricularia damazioi* the stigma premature receptivity could allow self-pollination
16 still in the bud stage due the self-compatibility, as occurs in *U. stellaris* (Khosla *et al.* 1998).
17 However, approach herkogamy and protogyny temporarily minimize the self-pollination
18 possibility, increasing the chances of cross-fertilization on the first days of anthesis.

19 Despite the mechanisms that disfavor self-pollination (protogyny and herkogamy), *U.*
20 *damazioi* presented a mixed breeding system, with a high capacity to produce fruits in the
21 pollinator absence. In general, *Utricularia* species are self-compatible and those that present
22 temporary herkogamy (Chaudhary *et al.* 2018) or absence of herkogamy (Jérémie 1989) can
23 achieve pollination vector independence.

1 When compared to flowers in the functionally female phase (first days of anthesis),
2 flowers in the hermaphrodite phase revealed a smaller distance between the reproductive organs
3 and one individual did not present herkogamy. Thus, may occur a distance decrease between
4 stigma and anthers or even loss of herkogamy during anthesis in *U. damazioi*. This condition
5 corroborates the high success of spontaneous self-pollination observed in our results, together
6 with the high pollen viability (~60%, in 48 hours) and long stigmatic receptivity (Menezes
7 2015)

8 The temporary herkogamy (Willmer 2011), known in other species of *Utricularia*
9 (Kausik & Raju 1955; Kondo 1972; Chaudhary *et al.* 2018) enables self-pollination at the
10 anthesis ending, when cross-pollination does not occur, conferring an advantage in the
11 pollinators absence (Kerner von Marilaun 1890; Lloyd 1992; Goodwillie & Weber 2018). Thus,
12 late spontaneous self-pollination in *U. damazioi* may represent an opportunity for sexual
13 reproduction and propagation via seeds even under unfavorable environmental conditions and
14 in pollinators absence.

15

16 **Effective pollinators**

17 Due to the gullet-shaped bilabial pattern of *U. damazioi* flowers and the position of the
18 reproductive organs, pollen deposition is nototribic. As the space is restricted, the pollinator
19 exit is only possible with a backward movement, similar to that described for bees that visit
20 bilabial flowers of other species (Westerkamp & Claßen-Bockhoff 2007). This floral
21 morphological pattern is a result of bees' adaptation, while insects with proboscises larger than
22 a spur, such as Lepidoptera, no longer insert body parts into the flower (Westerkamp and
23 Claßen-Bockhoff 2007).

24 Visitors with larger proboscises in relation to spur size, access the nectar more easily
25 and forage for a shorter time, reducing the probability of nototribic pollen deposition in bilabial

1 and spurred flowers (Naghiloo *et al.* 2021). HesperIIDae butterflies did not show pollen
2 deposition on the body when visiting *U. damazioi*. However, the flower handling time was
3 similar to the bees' time. This probably happened due to the low nectar production in
4 *Utricularia*, which does not accumulate at the spur bottom and become dispersed in droplets
5 throughout papillae (Hobbhahn *et al.* 2006; Anand *et al.* 2007) as observed in *U. damazioi*
6 (observe. pess.; Menezes 2015).

7 Low nectar production may be advantageous, because it forces visitors to investigate all
8 spur surfaces and these movements increase the pollen removal and deposition probability
9 (Hobbhahn *et al.*, 2006). However, the low pollen amount found in HesperIIDae and
10 Curculionidae specimens is not sufficient for most ovules fertilization in *U. damazioi*, which
11 has about 300 ovules per flower (Menezes 2015).

12 HesperIIDae species with similar behavior (inserting only the proboscis into the flower)
13 were effective in pollinating *U. graminifolia* (~200 ovules), however, the pollen charge in these
14 lepidopterans was higher because there was no space between the reproductive organs and
15 lower lip (Hobbhahn *et al.*, 2006). Therefore, this space is a limiting factor for *U. damazioi*
16 pollination.

17 Bees from Augoclorini and Andrenidae had a higher nototribic deposition proportion
18 due to the head and thorax dimensions when compared to the spur entrance perimeter. Thus,
19 the nototribic pollen deposition of *U. damazioi* also results from the specific position adopted
20 by the bees during the flowers visit with the spur entrance perimeter preventing larger bees
21 from touching the reproductive organs with other body parts besides the head.

22 The optimal pollen deposition in 'safe places' such as the dorsal region, where bees
23 cannot see, taste, feel or clean it (Koch *et al.* 2017), results in less pollen loss and higher
24 pollination efficiency (Westerkamp and Claßen-Bockhoff 2007). In this way, *U. damazioi*
25 presents an ecological specialization of functional group in which the pollinators are insects

1 with similar morphological and behavior patterns (Armbruster 2017). These pollinators have a
2 tongue smaller than the spur, and also enough strength and weight to force and lower the palate,
3 and adequate proportions to touch the reproductive organs with the body dorsal region, leading
4 to nototribic pollen deposition.

5 Thus, we assume that small and medium-sized bees are more effective pollinators due
6 to the higher nototribic pollen deposition proportion. The other bees also showed legitimate
7 visiting behavior, however, pollen transfer tends to be lower because the pollen is concentrated
8 in the head, which is easier to clean than the dorsal region. (Koch *et al.* 2017). According to
9 Menezes (2015), an *Augochloropsis* species was also recorded legitimately visiting *U. damazioi*
10 in PARNA Serra da Canastra. Andrenidae, *Centris*, and *Megachile* are recorded for the first
11 time in *Utricularia*.

12 *Apis mellifera* has been observed in other *Utricularia*, together with other native *Apis*
13 in India (Hobbhahn *et al.* 2006, Chaudhary *et al.* 2018). In Brazil, this is an exotic species of
14 great importance for agricultural crops pollination (Rucker *et al.* 2012). Despite being related
15 to the reduction of wild pollinator diversity through competition (Goulson 2003; Freitas *et al.*
16 2009), *Apis mellifera* does not necessarily reduce the native species abundance or richness more
17 than other bees that reach the same dominance levels (Garibaldi *et al.* 2021). As visitors to *U.*
18 *damazioi*, *Apis mellifera* do not have ideal body dimensions for greater nototribic pollen
19 deposition and showed a higher visits frequency compared to other bees. Thus, it is important
20 to consider that the native pollinator displacement may be occurring due to resources
21 competition by these species.

22

23 **Floral attractions**

24 The reflectance curve observed in the *U. damazioi* corollas absorbs UV (u -) and green
25 (g -), and reflects blue (b +) and red (r +). Flowers of this type comprise 25.2% of the reflection

1 pattern in angiosperms (Chittka & Menzel 1992). As the most bee species do not have receptors
2 sensitive to longer wavelengths in the red range (Briscoe & Chittka 2001), the difference
3 between fuchsia and lilac flowers cannot be perceived by bees through chromatic contrast, and
4 can only be perceived achromatically (Chittka *et al.* 1994).

5 In a scenario where bees overlook lilac flowers, visiting only fuchsia flowers
6 (functionally female), they would not have pollen to transfer and therefore would not act as
7 pollinators. Thus, the species sexual reproduction would be restricted to spontaneous self-
8 pollination, when the flowers are functionally hermaphrodites and the distance between anthers
9 and stigma is reduced. On the other hand, if the bees overlook the fuchsia flowers, visiting only
10 the lilacs flowers (functionally hermaphrodites), they could favor self-pollination and
11 geitonogamy.

12 How bees don't use achromatic cues in close-range discrimination tasks (Giurfa *et al.*
13 1997), the two floral colors are not differentiated during foraging. This is relevant for *U.*
14 *damazioi*, because allows bees to visit indistinctly newly opened flowers functionally female
15 (fuchsia) and more mature functionally hermaphrodite flowers (lilacs). Thus, newly opened
16 flowers, functionally female, are likely to receive pollen from other plants, favoring cross-
17 fertilization. Sexual and outcrossing is important for heterozygosity and genetic diversity
18 increasing (Stebbins 1957), with adaptation to common microenvironments in rupestrian fields,
19 which would explain the high intraspecific morphological diversity within *U. amethsytina* s.l..

20 The selection of flowers by the floral visitors involves a critical search time and the
21 flower chromatic and achromatic properties affect this time by guiding visitors toward the
22 flowers (Lunau *et al.* 1996; Lunau 2006). Bees can detect small flowers like those of *U.*
23 *damazioi* (~2 cm in length) mainly by the achromatic contrast between the flower and the
24 background (Spaethe *et al.* 2001).

1 Additionally, we observed that the bee green receptor is excited by the yellow crests
2 portion reflectance (pattern u - b - g + r +, Chittka *et al.* 1994) and the chromatic and achromatic
3 contrast between the corolla and the yellow ridges portion is perceived by the bees. In this way,
4 the ridges are visible and distinguishable from the rest of the corolla by the bees, functioning
5 as intrafloral visual guides *sensu* Dafni & Giurfa (1999).

6 Floral guides are important for visitors orientation toward the flower opening and
7 increasing coupling accuracy (Dafni & Giurfa 1999). Bees hover more in flowers with floral
8 guides and land on them more frequently. Such attractiveness is the spontaneous behavioral
9 response manifestation that does not require learning (Lehrer *et al.* 1985). However, floral
10 guides can only be perceived at a close distance (~2 cm) (Vorobyev *et al.* 1997) and are
11 irrelevant for recognition at intermediate or long distances (Lunau 1990, 1991).

12 In this sense, the landing reaction at greater distances can be triggered by different color
13 olfactory and visual signals, such as the landing area shape (Lunau 1990, 1991). The *U.*
14 *damazioi* zygomorphic pattern is accurately and reliably visualized by the bees compound eye
15 (Menzel & Shmida 1993). In addition, ventral "landing areas" with long wave colors, such as
16 the blue reflectance trilobed lower lip of *U. damazioi*, enhance the bees landing response (Dafni
17 & Giurfa 1999).

18 In this way, the odor, the zygomorphic pattern, and the achromatic contrast of the *U.*
19 *damazioi* flowers against the background may be acting on the bees attraction at greater
20 distances. Later, these can be directed to the flower opening due to the high contrast between
21 the floral guides and the corolla. Additionally, a tactile stimulus such as the ridges and
22 trichomes on the palate can guide the correctly engage visitor to the resource, favoring contact
23 with the flower reproductive organs.

24 Furthermore, the petals and guides of *U. damazioi* absorb UV (reflectance values below
25 5%) (Camargo *et al.* 2019; Tunes *et al.* 2021). The yellow and UV absorbing color of the guides

1 located in the low ridges relief may be related to anther mimicry, usually found on flowers
2 where anthers and pollen are hidden or unattractive (Lunau 2006). This characteristic may be
3 responsible for the fact that Augochlorini spends more time on the palate, however, we did not
4 investigate whether there was antennal contact between the bees and the guides during visits,
5 indicating the pollen search (Lunau 2006). This behavior still needs to be further investigated
6 to verify if the anther mimicry hypothesis fits *U. damazioi* or if these bees behavior is related
7 to floral herbivory, as observed in yellow regions of the *Genlisea violacea* palate (Aranguren
8 *et al.* 2018).

9

10 **How does *U. damazioi* maintains itself in *campos rupestres*?**

11 The carnivorous plant *U. damazioi* finds in *campos rupestres* on Cerrado, present
12 ecologically specialized flowers to small to medium-sized bees, which are its main pollinators
13 due to the precise coupling and greater nototribic pollen deposition. Functionally female
14 flowers, at the anthesis beginning, are not chromatically distinguishable from hermaphrodites
15 by bees, allowing the existence of a temporal window that favors cross-fertilization. If the
16 crossing does not occur, hermaphroditism and the distance decrease between anthers and stigma
17 during anthesis increase the chances of spontaneous self-pollination.

18 As *U. damazioi*, many annual species occur in inhospitable environments seasonally, so
19 self-fertilization may be selected to compensate for the population density and/or pollinators
20 decrease for example in arid periods (Munoz *et al.* 2016). Species under such conditions may
21 show reduced herkogamy compared to perennial plants (Ma *et al.* 2021). By directly
22 influencing the breeding system, herkogamy is one of the floral traits that evolve more quickly
23 in the face of environmental conditions changes (Opedal *et al.* 2017; Opedal 2018, 2019)

24 Taxonomic diversity and the number of visits were directly proportional to the flower
25 density among the observation sites, which has also been described for other *Utricularia*

1 (Hobbhahn *et al.* 2006, Chaudhary *et al.* 2018). Habitat loss can lead to a density decrease in
2 populations of *U. damazioi* and it is known that habitat fragmentation, one of the greatest threats
3 to global biodiversity, negatively impacts the plant populations genetic diversity, especially by
4 reducing pollinator visits and reproductive success (Cristóbal-Pérez *et al.* 2021). It is important
5 to consider that, in our study, we verified the *U. damazioi* plants that occur isolated or in low
6 density have a low pollinator visits frequency. In this scenario, late spontaneous self-pollination
7 can be essential for its maintenance, ensuring the progenies production regardless of the pollen
8 transfer vectors presence.

9 Reproduction by seeds has advantages over vegetative (clonal) propagation in this
10 species, because allows the hundreds of propagules to dispersion with genetic variability from
11 a single flower. These are more likely to be distributed over a broad area by wind or water
12 (Menezes *et al.* 2014) than vegetative propagules, which represents greater chances of finding
13 favorable establishment microsites and maintenance to the next generations. This founding and
14 colonization process would explain the presence of populations with a low number of
15 individuals, often found isolated in Cerrado fields, rocky fields, and on the creeks banks and
16 waterfalls.

17 Although recurrent selfing may lead to reduce the adaptation potential due to genetic
18 diversity loss in populations (Stebbins 1957), recent studies have indicated that the potential for
19 autogamous populations evolution can be comparable to the allogamous populations in the
20 short and long term (van Ginkel & Flipphi 2020; Clo & Opedal 2021). Self-fertilization
21 increases reproduction via seeds, highly dispersible, important for new populations
22 recolonization and foundation (Baker 1955), enables sexual reproduction even in isolated
23 flowers in situations where synchronous populations are very distant; and keeps the gene pool
24 adapted to local environmental conditions with little genetic recombination (Lloyd 1965).

1 **Final considerations**

2 *Utricularia damazioi* can rely on seed production safety by self-fertilization in the
3 pollination vectors absence and on the potential genetic diversity increase in their presence. In
4 this context, the maintenance of flowers with morphology associated with bees pollination (*e.g.*
5 accentuated zygomorphy, presence of landing platform and spur), trophic resources and floral
6 attractions (*e.g.* conspicuous coloration to bees, presence of contrasting floral guides and odor)
7 raise questions about pollinator-mediated selection, even in settings where pollinators are not
8 essential.

9 This flexibility may represent greater possibilities to variations adaptation to
10 environmental conditions which this species may be submitted spatially and temporally.
11 Especially in the current rapid global changes scenario resulting from intense human activity
12 and in which the conservation of highly specialized species or species with restricted
13 distribution such as carnivorous plants is challenging (Cross *et al.* 2020).

15 **ACKNOWLEDGEMENTS**

16 We would like to thank Favízia Freitas de Oliveira (Institute of Biology of the Federal
17 University of Bahia) for identifying the bees and André V. Lucci Freitas (Department of Animal
18 Biology – UNICAMP) for identifying the butterflies. This study was financed in part by the
19 Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – Brazil (CAPES) – Finance
20 Code 001; National Council for Scientific and Technological Development (CNPq; VFOM
21 productivity grant, E.Guimarães Proc. 312799/2021-7); Research Support Foundation of the
22 State of São Paulo (FAPESP Proc. 2018/02285-6, Proc. 2018/14146-0, 2020/11053-1). This
23 study was also made possible by the support of CAPES within the scope of the CAPES-PrInt
24 Program, process n. 88887.310463/2018-00, International Cooperation Project - Global
25 Research Alliance - BioGATe.

REFERENCES

- Albert V.A., Jobson R.W., Michael T.P., Taylor D.J. (2010) The carnivorous bladderwort (*Utricularia*, Lentibulariaceae): a system inflates. *Journal of Experimental Botany* **61**:5–9.
- Anand C., Umranikar C., Shintre P., Damle A., Kale J., Joshi J., Watve M. (2007) Presence of two types of flowers with respect to nectar sugar in two gregariously flowering species. *Journal of Biosciences* **32**:769–774.
- Aranguren Y., Płachno B.J., Stpiczyńska M., Miranda V.F.O. (2018) Reproductive biology and pollination of the carnivorous *Genlisea violacea* (Lentibulariaceae) (A. Dafni, Ed.). *Plant Biology* **20**:591–601.
- Armbruster W.S. (2017) The specialization continuum in pollination systems: diversity of concepts and implications for ecology, evolution and conservation. *Functional Ecology* **31**:88–100.
- Baker H.G. (1955) Self-Compatibility and Establishment After “Long-Distance” Dispersal. *Evolution* **9**:347–349.
- Baleeiro P., Gonella P., Sano P., Jobson R. (2022) Unveiling *Utricularia amethystina*'s true colours: a taxonomic revision of one of the largest species complexes (*U. sect. Foliosa*, Lentibulariaceae). *Phytotaxa* **576**:29–54.
- Baleeiro P.C., Jobson R.W., Sano P.T. (2016) Morphometric approach to address taxonomic problems: The case of *Utricularia* sect. *Foliosa* (Lentibulariaceae). *Journal of Systematics and Evolution* **54**:175–186.
- Baleeiro P.C., Sano P.T., Jobson R.W. (2019) Molecular Phylogeny of the *Utricularia amethystina* Complex (*Utricularia* sect. *Foliosa*) Assessed Using Plastid and Nuclear Sequence Data. *Systematic Botany* **44**:398–404.
- Briscoe A.D., Chittka L. (2001) The evolution of color vision in insects. *Annual review of entomology* **46**:471–510.
- Camargo M.G.G. de, Lunau K., Batalha M.A., Brings S., Brito V.L.G. de, Morellato L.P.C. (2019) How flower colour signals allure bees and hummingbirds: a community-level test of the bee avoidance hypothesis. *New Phytologist* **222**:1112–1122.
- Chaudhary A., Yadav S.R., Tandon R. (2018) Delayed selfing ensures reproductive assurance in *Utricularia praeterita* and *Utricularia babui* in Western Ghats. *Journal of Plant Research* **131**:599–610.
- Chittka L., Menzel R. (1992) The evolutionary adaptation of flower colours and the insect pollinators' colour vision. *Journal of Comparative Physiology A* **171**:171–181.
- Chittka L., Shmida A., Troje N., Menzel R. (1994) Ultraviolet as a component of flower reflections, and the colour perception of Hymenoptera. *Vision Research* **34**:1489–1508.

- Clivati D., Cordeiro G.D., Płachno B.J., de Miranda V.F.O. (2014) Reproductive biology and pollination of *Utricularia reniformis* A.St.-Hil. (Lentibulariaceae) (A. Dafni, Ed.). *Plant Biology* **16**:677–682.
- Clo J., Opedal Ø.H. (2021) Genetics of quantitative traits with dominance under stabilizing and directional selection in partially selfing species. *Evolution* **75**:1920–1935.
- Cristóbal-Pérez E.J., Fuchs E.J., Martén-Rodríguez S., Quesada M. (2021) Habitat fragmentation negatively affects effective gene flow via pollen, and male and female fitness in the dioecious tree, *Spondias purpurea* (Anacardiaceae). *Biological Conservation* **256**:109007.
- Cross A.T., Krueger T.A., Gonella P.M., Robinson A.S., Fleischmann A.S. (2020) Conservation of carnivorous plants in the age of extinction. *Global Ecology and Conservation* **24**:e01272.
- Dafni A., Giurfa M. (1999) The functional ecology of floral guides in relation to insects behaviour and vision. In: *Evolutionary theory and processes: Modern perspectives*. Springer, pp 363–383.
- Dafni A., Kevan P.G., Husband B.C. (2005) *Practical pollination biology*. Enviroquest Ltd, Canada. [online] URL: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20053155384> (accessed 18 November 2022).
- Ellison A.M., Adamec L. (2018) *Carnivorous plants: physiology, ecology, and evolution*. Oxford University Press, UK.
- Faegri K., van der Pijl L. (1966) *The principles of pollination ecology*, ix+ 248 pp. Toronto & Oxford:157–159.
- Fernandes G.W., Arantes-Garcia L., Barbosa M., Barbosa N.P., Batista E.K., Beiroz W., Resende F.M., Abrahão A., Almada E.D., Alves E. (2020) Biodiversity and ecosystem services in the Campo Rupestre: A road map for the sustainability of the hottest Brazilian biodiversity hotspot. *Perspectives in Ecology and Conservation* **18**:213–222.
- Freitas L. (2018) Precisamos falar sobre o uso impróprio de recursos florais. *Rodriguésia* **69**:2223–2228.
- Freitas B.M., Imperatriz-Fonseca V.L., Medina L.M., Kleinert A. de M.P., Galetto L., Nates-Parra G., Quezada-Euán J.J.G. (2009) Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. *Apidologie* **40**:332–346.
- Garibaldi L.A., Pérez-Méndez N., Cordeiro G.D., Hughes A., Orr M., Alves-dos-Santos I., Freitas B.M., Freitas De Oliveira F., LeBuhn G., Bartomeus I. (2021) Negative impacts of dominance on bee communities: Does the influence of invasive honey bees differ from native bees? *Ecology* **102**:e03526.
- van Ginkel M., Flippi R.C.H. (2020) Why Self-fertilizing Plants Still Exist in Wild Populations: Diversity Assurance through Stress-Induced Male Sterility May Promote Selective Outcrossing and Recombination. *Agronomy* **10**:349.
- Giurfa M., Vorobyev M., Brandt R., Posner B., Menzel R. (1997) Discrimination of coloured stimuli by honeybees: alternative use of achromatic and chromatic signals. *Journal of Comparative Physiology A* **180**:235–243.

- Goodwillie C., Weber J.J. (2018) The best of both worlds? A review of delayed selfing in flowering plants. *American Journal of Botany* **105**:641–655.
- Goulson D. (2003) Effects of introduced bees on native ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **34**:1–26.
- Guedes F.M., Coan A.I., Araújo G.B., Alves M. (2021) The identity of *Utricularia trinervia* (Lentibulariaceae): Taxonomic re-establishment and unpublished descriptions of trap morphology. *TAXON* **70**:854–865.
- Guedes F.M., Gonella P.M., Domínguez Y., Moreira A.D.R., Silva S.R., Fleischmann A., Díaz Y.C.A., Menezes C.G., Rivadavia F., Miranda V. F. O. (2022) Lentibulariaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available in: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB146>>
- Hobbhahn N., Küchmeister H., Porembski S. (2006) Pollination Biology of Mass Flowering Terrestrial *Utricularia* Species (Lentibulariaceae) in the Indian Western Ghats. *Plant Biology* **8**:791–804.
- Hopper S.D. (2009) OCBIL theory: towards an integrated understanding of the evolution, ecology and conservation of biodiversity on old, climatically buffered, infertile landscapes. *Plant and Soil* **322**:49–86.
- Jérémie J. (1989) Autogamie dans le genre *Utricularia* L.(Lentibulariaceae). Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle Section B, Adansonia **11**:17–28.
- Jobson R.W., Albert V.A. (2002) Molecular Rates Parallel Diversification Contrasts between Carnivorous Plant Sister Lineages 1. *Cladistics* **18**:127–136.
- Kausik S.B., Raju M.V.S. (1955) A contribution to the floral morphology and embryology of *Utricularia reticulata* Smith. In: Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B. Springer, India, pp 155–166.
- Keighery G.J. (1982) Bird-pollinated plants in Western Australia. In: Pollination and evolution. Royal Botanic Gardens, Sydney, pp 77–89.
- Kerner von Marilaun A. (1890) Pflanzen-leben. 2 Bände. Leipzig u Wien **91**
- Khosla C., Shivanna K.R., Mohan Ram H.Y. (1998) Pollination in the aquatic insectivore *Utricularia inflexa* var. *stellaris*. *Phytomorphology* **48**:417–425.
- Koch L., Lunau K., Wester P. (2017) To be on the safe site—Ungroomed spots on the bee's body and their importance for pollination. *PloS one* **12**:e0182522.
- Köppen W. (1948) *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Económica, México.
- Kondo K. (1972) A comparison of variability in *Utricularia cornuta* and *Utricularia juncea*. *American Journal of Botany* **59**:23–37.
- Lehrer M., Wehner R., Srinivasan M. (1985) Visual scanning behaviour in honeybees. *Journal of Comparative Physiology A* **157**:405–415.

- Lloyd D.G. (1965) Evolution of Self-Compatibility and Racial Differentiation in *Leavenworthia* (Cruciferae). *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*:3–134.
- Lloyd D.G. (1992) Self-and cross-fertilization in plants. II. The selection of self-fertilization. *International journal of plant sciences* **153**:370–380.
- Lloyd D.G., Schoen D.J. (1992) Self- and Cross-Fertilization in Plants. I. Functional Dimensions. *International Journal of Plant Sciences* **153**:358–369.
- Lunau K. (1990) Colour saturation triggers innate reactions to flower signals: flower dummy experiments with bumblebees. *Journal of Comparative Physiology A* **166**:827–834.
- Lunau K. (1991) Innate flower recognition in bumblebees (*Bombus terrestris*, *B. lucorum*; *Apidae*): optical signals from stamens as landing reaction releasers. *Ethology* **88**:203–214.
- Lunau K. (2006) Stamens and mimic stamens as components of floral colour patterns. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* **127**:13–41.
- Lunau K., Wacht S., Chittka L. (1996) Colour choices of naive bumble bees and their implications for colour perception. *Journal of Comparative Physiology A* **178**:477–489.
- Ma Y., Barrett S.C.H., Wang F.-Y., Deng J.-C., Bai W.-N. (2021) Do annual and perennial populations of an insect-pollinated plant species differ in mating system? *Annals of Botany* **127**:853–864.
- Maia R., Eliason C.M., Bitton P.-P., Doucet S.M., Shawkey M.D. (2013) pavo: an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods in Ecology and Evolution* **4**:906–913.
- Mann H.B., Whitney D.R. (1947) On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics*:50–60.
- McPherson S. (2010) *Carnivorous Plants and Their Habitats: Volume 2*. Redfern Natural History Productions Ltd, Poole, Dorset.
- Menezes C.G. (2015) *Sistemática, evolução e biologia reprodutiva de Utricularia com ênfase para Utricularia amethystina Salzm. Ex A. St.-Hil. & Girard (Lentibulariaceae)*. Universidade Estadual Paulista (UNESP)
- Menezes C., Gasparino E., Baleeiro P., Miranda V. (2014) Seed morphology of bladderworts: A survey on *Utricularia* sect. *Foliosa* and sect. *Psyllosperma* (Lentibulariaceae) with taxonomic implications. *Phytotaxa* **167**:173–182.
- Menzel R., Shmida A.V.I. (1993) The ecology of flower colours and the natural colour vision of insect pollinators: the Israeli flora as a study case. *Biological Reviews* **68**:81–120.
- Miola D.T.B., Ramos V.D.V., Silveira F.A.O. (2021) A brief history of research in campo rupestre: identifying research priorities and revisiting the geographical distribution of an ancient, widespread Neotropical biome. *Biological Journal of the Linnean Society* **133**:464–480.

- Miranda V.F., Silva S.R., Reut M.S., Dolsan H., Stolarczyk P., Rutishauser R., Plachno B.J. (2021) A Historical Perspective of Bladderworts (*Utricularia*): Traps, Carnivory and Body Architecture. *Plants* **10**:2656.
- Munoz F., Violle C., Cheptou P.-O. (2016) CSR ecological strategies and plant mating systems: outcrossing increases with competitiveness but stress-tolerance is related to mixed mating. *Oikos* **125**:1296–1303.
- Naghiloo S., Nikzat-Siahkolaee S., Esmailou Z. (2021) Size-matching as an important driver of plant-pollinator interactions. *Plant Biology* **23**:583–591.
- Ne'eman G., Jürgens A., Newstrom-Lloyd L., Potts S.G., Dafni A. (2009) A framework for comparing pollinator performance: effectiveness and efficiency. *Biological Reviews* **85**:435–451.
- Oliveira R.S., Abrahão A., Pereira C., Teodoro G.S., Brum M., Alcantara S., Lambers H. (2016) Ecophysiology of campos rupestres plants. In: Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil. Springer, pp 227–272.
- Opedal Ø.H. (2018) Herkogamy, a principal functional trait of plant reproductive biology. *International Journal of Plant Sciences* **179**:677–687.
- Opedal Ø.H. (2019) The evolvability of animal-pollinated flowers: towards predicting adaptation to novel pollinator communities. *New Phytologist* **221**:1128–1135.
- Opedal Ø.H., Bolstad G.H., Hansen T.F., Armbruster W.S., Pélabon C. (2017) The evolvability of herkogamy: Quantifying the evolutionary potential of a composite trait. *Evolution* **71**:1572–1586.
- Peitsch D., Fietz A., Hertel H., de Souza J., Ventura D.F., Menzel R. (1992) The spectral input systems of hymenopteran insects and their receptor-based colour vision. *Journal of Comparative Physiology A* **170**:23–40.
- Poppinga S., Daber L.E., Westermeier A.S., Kruppert S., Horstmann M., Tollrian R., Speck T. (2017) Biomechanical analysis of prey capture in the carnivorous Southern bladderwort (*Utricularia australis*). *Scientific reports* **7**:1–10.
- Poppinga S., Weisskopf C., Westermeier A.S., Masselter T., Speck T. (2016) Fastest predators in the plant kingdom: functional morphology and biomechanics of suction traps found in the largest genus of carnivorous plants. *AoB Plants* **8**:plv140.
- R Core Team (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>
- Reut M.S., Plachno B.J. (2022) Development, Diversity and Dynamics of Plant Architecture in *Utricularia* subgenus *Polypompholyx* – Towards Understanding Evolutionary Processes in the Lentibulariaceae. *The Botanical Review* [online] URL: <https://doi.org/10.1007/s12229-022-09283-5> (accessed 28 October 2022).
- Rucker R.R., Thurman W.N., Burgett M. (2012) Honey Bee Pollination Markets and the Internalization of Reciprocal Benefits. *American Journal of Agricultural Economics* **94**:956–977.

- Rutishauser R. (2016) Evolution of unusual morphologies in Lentibulariaceae (bladderworts and allies) and Podostemaceae (river-weeds): a pictorial report at the interface of developmental biology and morphological diversification. *Annals of Botany* **117**:811–832.
- Rutishauser R. (2020) EvoDevo: Past and Future of Continuum and Process Plant Morphology. *Philosophies* **5**:41.
- Rutishauser R., Isler B. (2001) Developmental genetics and morphological evolution of flowering plants, especially bladderworts (*Utricularia*): fuzzy Arberian morphology complements classical morphology. *Annals of Botany* **88**:1173–1202.
- Scrucca L. (2011) Model-based SIR for dimension reduction. *Computational Statistics & Data Analysis* **55**:3010–3026.
- Shapiro S.S., Wilk M.B. (1965) An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* **52**:591–611.
- Silva N.G., Alves R.J.V., Pereira J.F., Rivadavia F. (2016) Lentibulariaceae, Serra de São José, Minas Gerais, Brazil. *Check List* **7**:120–127.
- Silva S.R., Pinheiro D.G., Penha H.A., Płachno B.J., Michael T.P., Meer E.J., Miranda V.F.O., Varani A.M. (2019) Intraspecific Variation within the *Utricularia amethystina* Species Morphotypes Based on Chloroplast Genomes. *International Journal of Molecular Sciences* **20**:6130.
- Silveira F.A.O., Negreiros D., Barbosa N.P.U., Buisson E., Carmo F.F., Carstensen D.W., Conceição A.A., Cornelissen T.G., Echternacht L., Fernandes G.W., Garcia Q.S., Guerra T.J., Jacobi C.M., Lemos-Filho J.P., Le Stradic S., Morellato L.P.C., Neves F.S., Oliveira R.S., Schaefer C.E., Viana P.L., Lambers H. (2016) Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant and Soil* **403**:129–152.
- Spaethe J., Tautz J., Chittka L. (2001) Visual constraints in foraging bumblebees: Flower size and color affect search time and flight behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**:3898–3903.
- Stebbins G.L. (1957) Self Fertilization and Population Variability in the Higher Plants. *The American Naturalist* **91**:337–354.
- Taylor P. (1989) The genus *Utricularia*. A taxonomic monograph. Kew Bulletin:1–724.
- Tunes P., Camargo M.G.G., Guimarães E. (2021) Floral UV features of plant species from a Neotropical savanna. *Frontiers in plant science* **12**
- Vorobyev M., Gumbert A., Kunze J., Giurfa M., Menzel R. (1997) Flowers through insect eyes. *Israel Journal of Plant Sciences* **45**:93–101.
- Webb C.J., Lloyd D.G. (1986) The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany* **24**:163–178.
- Westerkamp C., Claßen-Bockhoff R. (2007) Bilabiate Flowers: The Ultimate Response to Bees? *Annals of Botany* **100**:361–374.

Westermeier A.S., Fleischmann A., Müller K., Schäferhoff B., Rubach C., Speck T., Poppinga S. (2017) Trap diversity and character evolution in carnivorous bladderworts (*Utricularia*, Lentibulariaceae). *Scientific reports* **7**:1–24.

Whitewoods C.D., Gonçalves B., Cheng J., Cui M., Kennaway R., Lee K., Bushell C., Yu M., Piao C., Coen E. (2020) Evolution of carnivorous traps from planar leaves through simple shifts in gene expression. *Science* **367**:91–96.

Wilcoxon F. (1945) Some uses of statistics in plant pathology. *Biometrics Bulletin* **1**:41–45.

Willmer P. (2011) *Pollination and Floral Ecology*. Princeton University Press, New Jersey, USA.

TABLES

Table 1. Percentage of fruit set in different pollination treatments in *Utricularia damazioi* (Lentibulariaceae).

Treatment	Fructification (%)
Autonomous self-pollination (n = 20)	95
Hand self-pollination (n = 17)	100
Hand cross-pollination (n = 15)	100
Agamospermy (n = 6)	0
Control (natural conditions) (n = 17)	100

Table 2. Legitimate visitors, number of shifts performed, flowers visited per shift, flowers visited in total, relative frequency and time spent on each visit to flowers of *U. damazioi* (Lentibulariaceae).

Legitimate visitors	Turns	Visited flowers			Time/ flower (s) (mean ± dp)
		Flowers visited/turn (mean ± dp)	Total flowers visited	Relative frequency (%)	
Population 1					
HYMENOPTERA					
Apidae					
<i>Apis mellifera</i>	3	12,3 ± 6,8	37	18,78	3,3 ± 1,5
<i>Centris</i> sp.	3	26,6 ± 5,7	80	40,61	3 ± 1,7
<i>Centris (Hemisiella)</i> <i>tarsata</i>	1	10	10	5,08	2
Halictidae					
Augochlorini					
<i>Augochlora</i> sp.	2	3,2 ± 1,7	4	2,03	20
<i>Augochloropsis</i> sp. 1	1	1	1	0,51	30
<i>Augochloropsis</i> sp. 2	3	1,6 ± 1,1	5	2,54	10
<i>Augochloropsis</i> sp. 3	2	4 ± 1,4	8	4,06	4 ± 1,4
Megachilidae					
<i>Megachile</i> sp.	1	10	10	5,08	3
LEPIDOPTERA					
Hesperiidae					
<i>Hesperiidae</i> sp.	14	2,3 ± 1,5	36	18,27	6,6 ± 4,3
<i>Synapte elana elana</i>	1	5	5	2,54	5
COLEOPTERA					
Curculionidae					
<i>Curculionidae</i> sp.	1	1	1	0,51	10
Population 2					
HYMENOPTERA					
Andrenidae					
<i>Andrenidae</i> sp.	2	3	6	33,33	4 ± 1,4
Apidae					
<i>Apis mellifera</i>	2	5,5 ± 3,5	11	61,11	3,5 ± 0,7
COLEOPTERA					
Curculionidae					
<i>Curculionidae</i> sp.	1	1	1	5,56	10

FIGURES

Figure 1. *Utricularia damazioi*. (A) Habitat with inflorescences, in detail the petiolate leaves in a rosette; (B) Functionally female fuchsia-colored flower on the left and functionally hermaphrodite lilac-colored flower on the right, (UL) upper lip, (P) palate, (LL) lower lip, (Sp) spur, arrow points to corolla ridges (bar ~12 mm scale); (C) Details of reproductive organs: (St) lower lip of stigma and (An) open anthers displaying pollen.

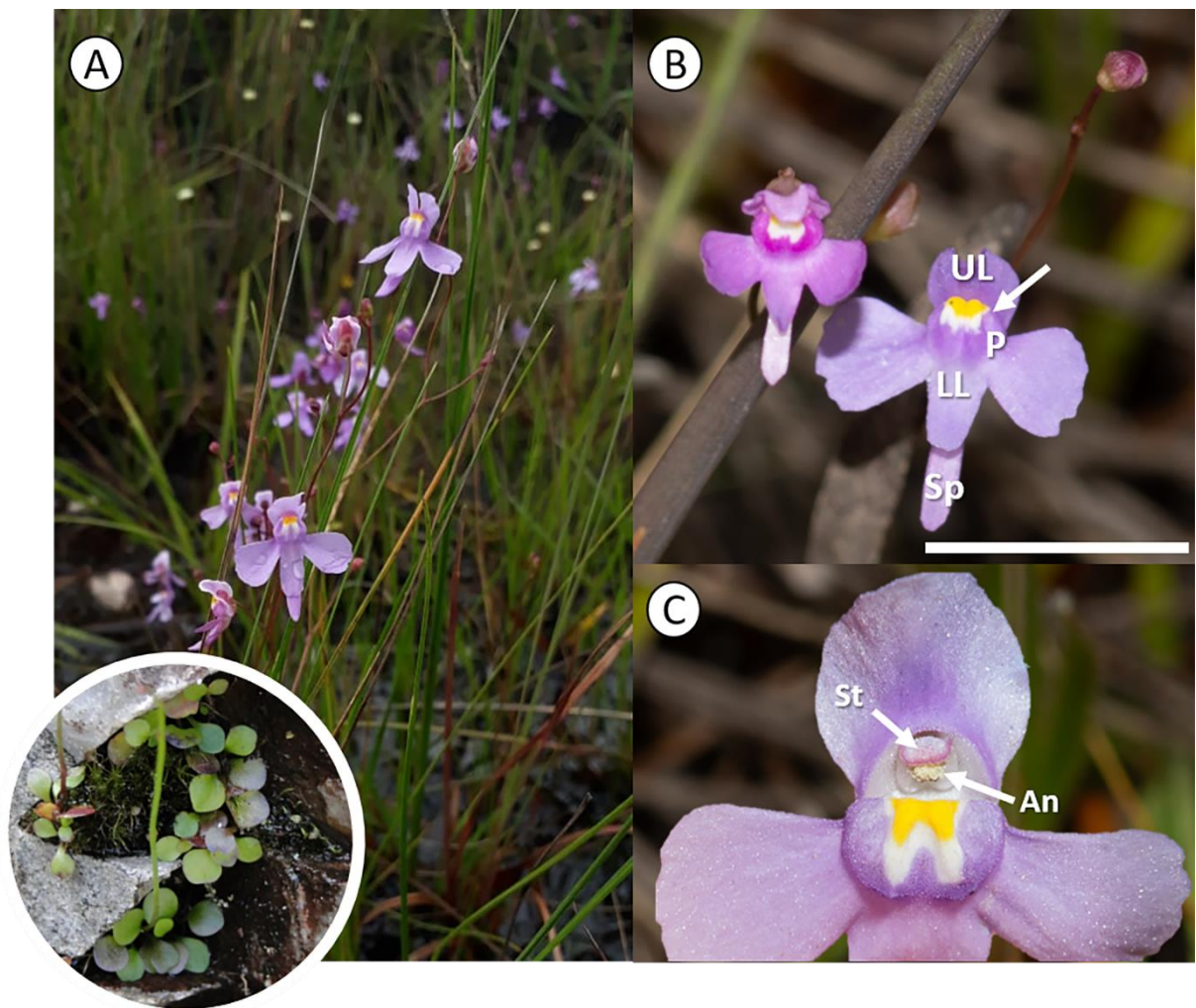


Figure 2. *Utricularia* flowers with indication of the distance between the reproductive organs and the inner wall of the lower lip: stigma (yellow) and anthers (red). On the left, illustration of *U. vulgaris* (illustration by H. Dolsan, inspired by Baillon 1892) and on the right, a fresh cut of *U. damazioi*.

Figure 3. Flower visitors of *Utricularia damazioi*. (A) *Augochlora* sp., arrow indicates nototribic pollen deposition; (B) *Augochloropsis* sp. two; (C) *Augochloropsis* sp. 3, with arrow indicates nototribic pollen deposition, in detail bee inserting thorax in calcar in search of resource; (D) *Apis mellifera*; (E) *Centris* sp.; (F) *Megachile* sp. and (G) *Hesperiidae* sp. inserting the proboscis into the flower.



Figure 4. Proportion of *Utricularia damazioi* pollen grains, extracted from different parts of the visitors' body, below the amount or mean and standard deviation (when more than one individual). (A) Andrenidae sp. (n = 2), (B) *Augochloropsis* sp. 3, (C) *Apis mellifera* (n = 3), (D) *Centris* (n = 2), (E) Curculionidae and (F) Hesperidae sp. (n = 2).

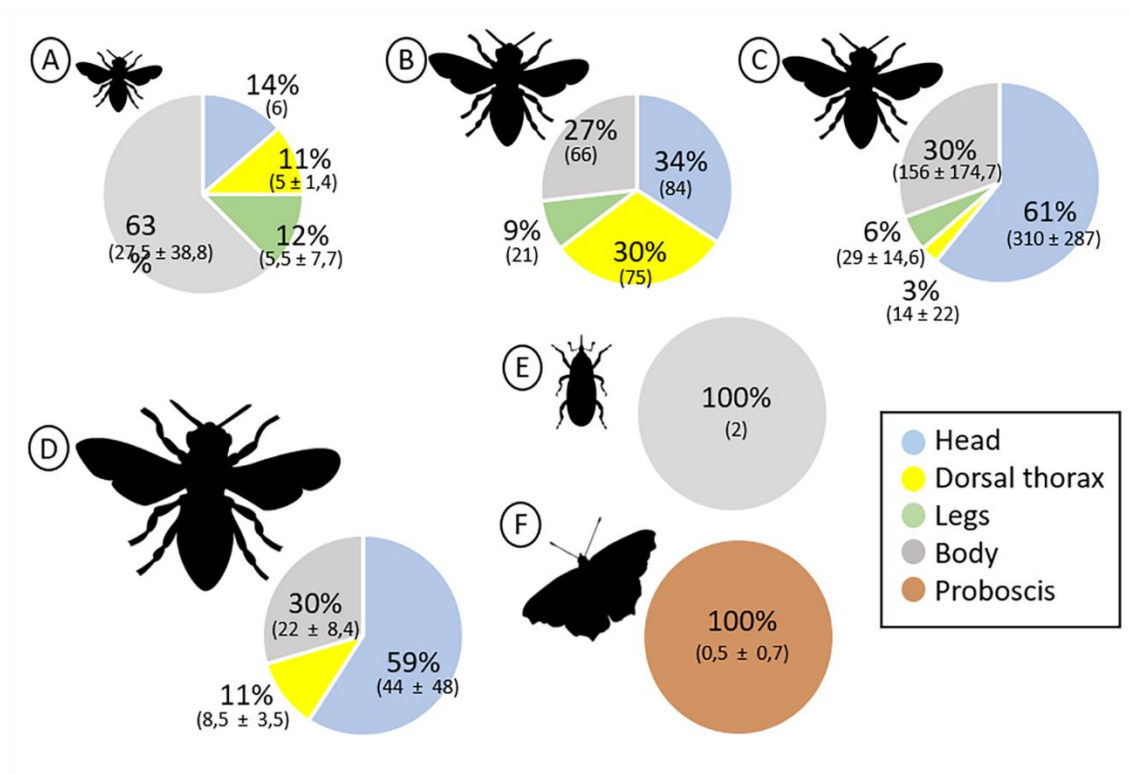


Figure 5. Morphometry of *Utricularia damazioi* and legitimate floral visitors. The figures show the comparison between: (A) the lengths of the calcar of the corolla and tongue (* = proboscis) of visitors; (B) Perimeter of the base (opening) of the calcar and circumference of the head of the visitors and (C) Perimeter of the base (opening) of the calcar and dorsiventral circumference of the thorax of the visitors. Flowers in female phase in fuchsia and hermaphrodite in lilac. Visitors: small bees (1) Andrenidae (n = 2) and (2) *Augochloropsis* sp. 1; medium bees (3) *Augochloropsis* sp. 3 and (4) *Apis mellifera* (n = 3); large bees (5) *Centris* sp. and (6) *Centris tarsata*, (7) Curculionidae and (8) Hesperidae (n = 2).

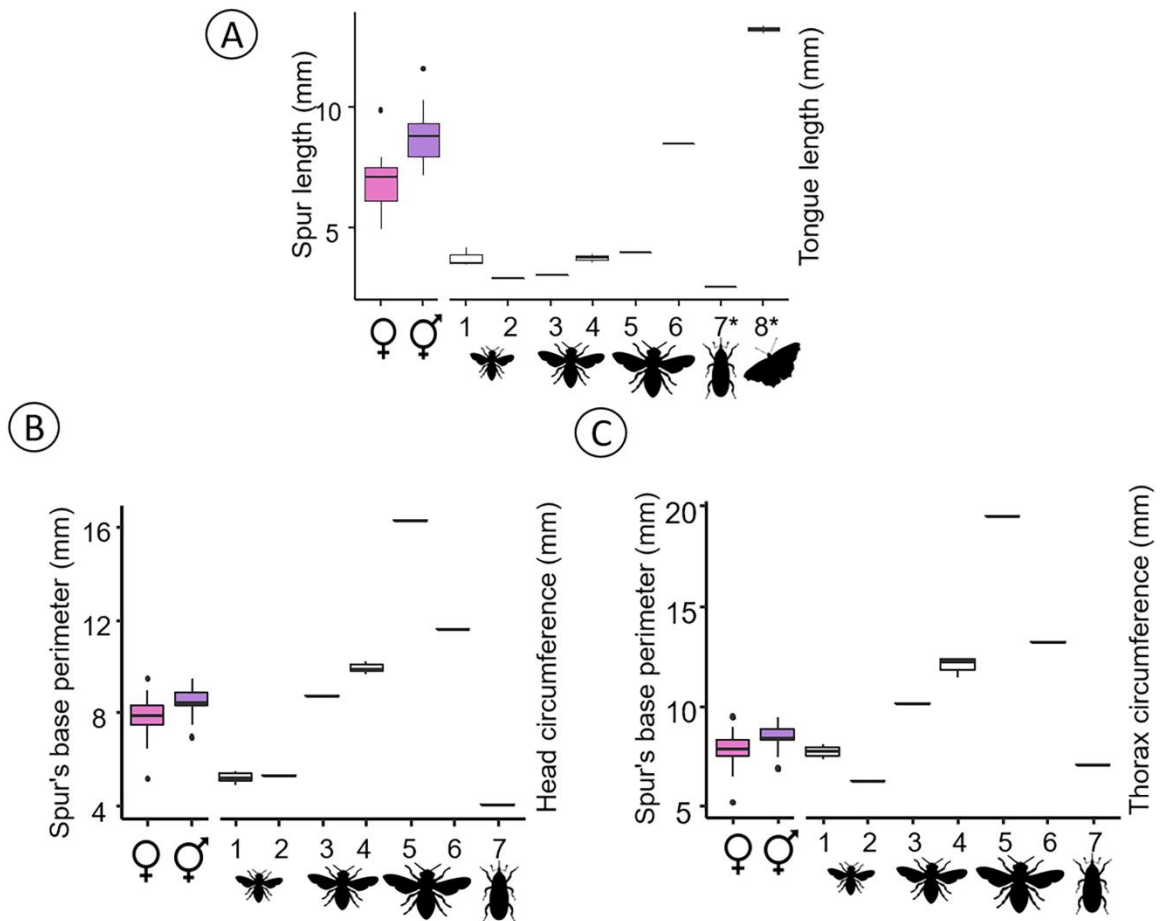


Figure 6. Morphometrics of *Utricularia damazioi* and legitimate visitors with their respective pollen load (represented by the average, when there was more than one individual). Distance from the lower lip to reproductive organs (y axis). Measurements of flowers in the female functional phase in fuchsia and measurements of flowers in the hermaphrodite functional phase in purple. (A) Number of pollen grains recorded on the head (* = proboscis) of floral visitors. (B) Number of pollen grains recorded on the thorax of floral visitors. Visitors: small bees (1) Andrenidae (n = 2) and (2) *Augochloropsis* sp. 1; medium bees (3) *Augochloropsis* sp. 3 and (4) *Apis mellifera* (n = 3); large bees (5) *Centris* sp. and (6) *Centris tarsata*; (7) Curculionidae and (8) Hesperiididae sp. (n = 2)..

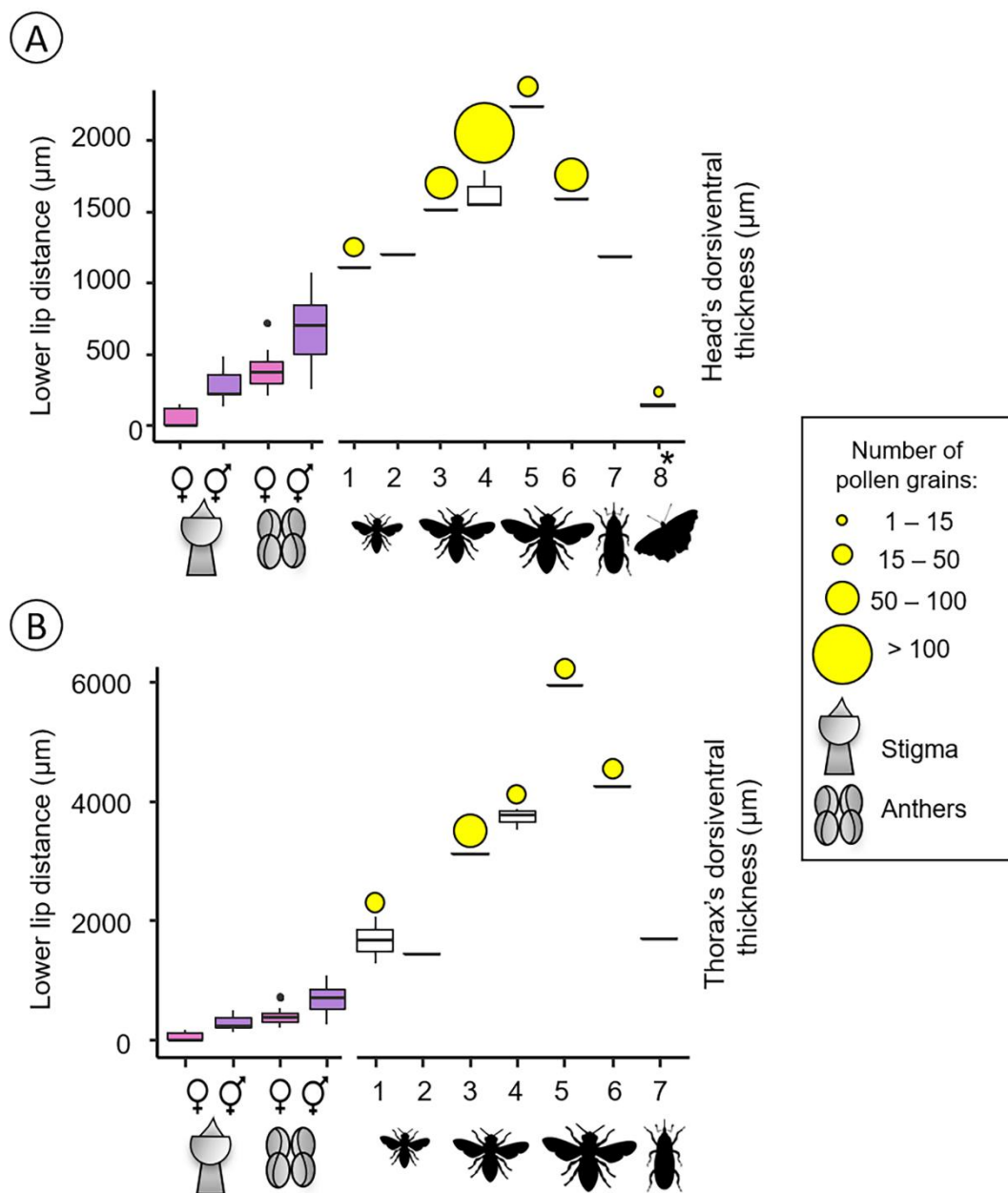
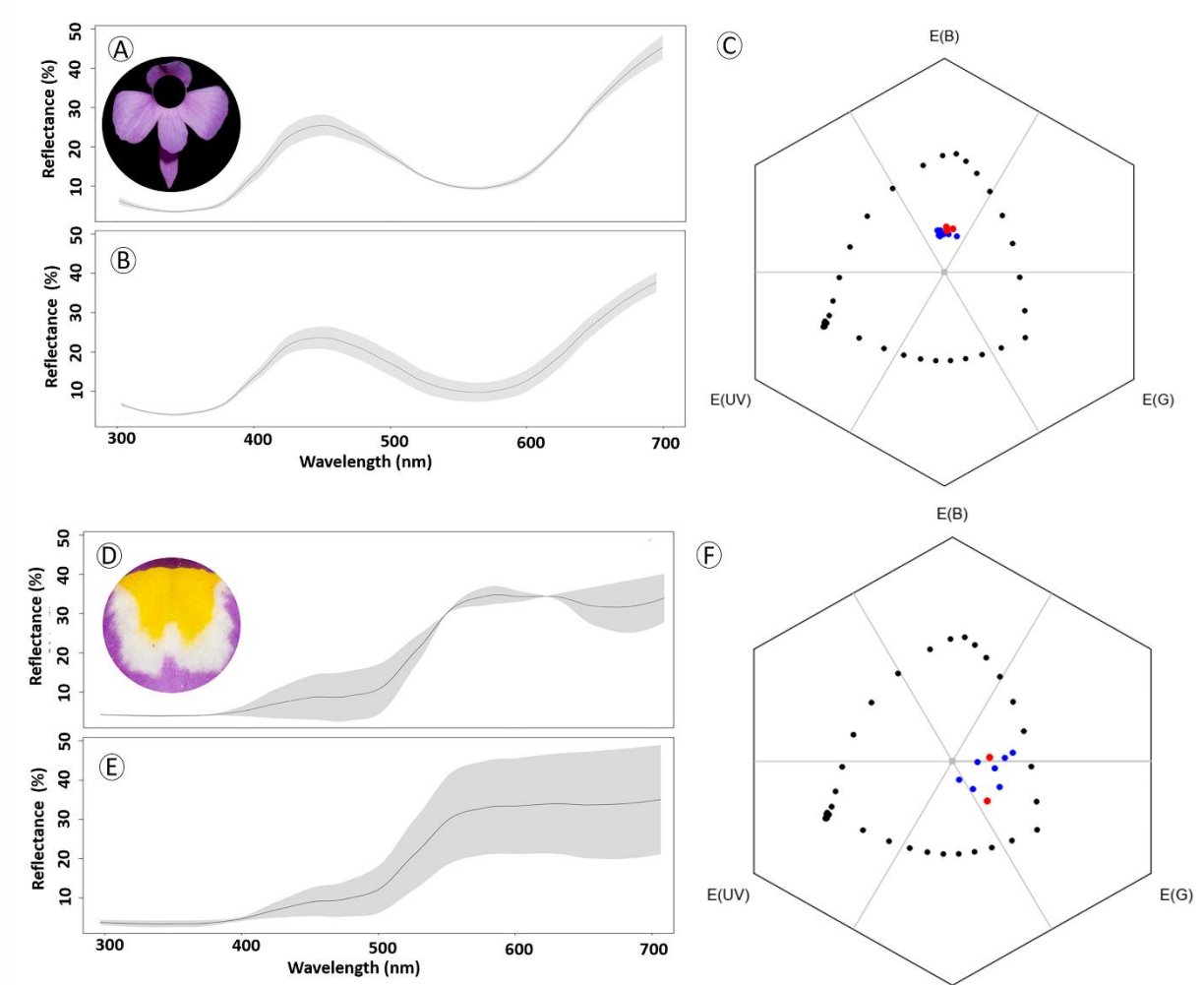


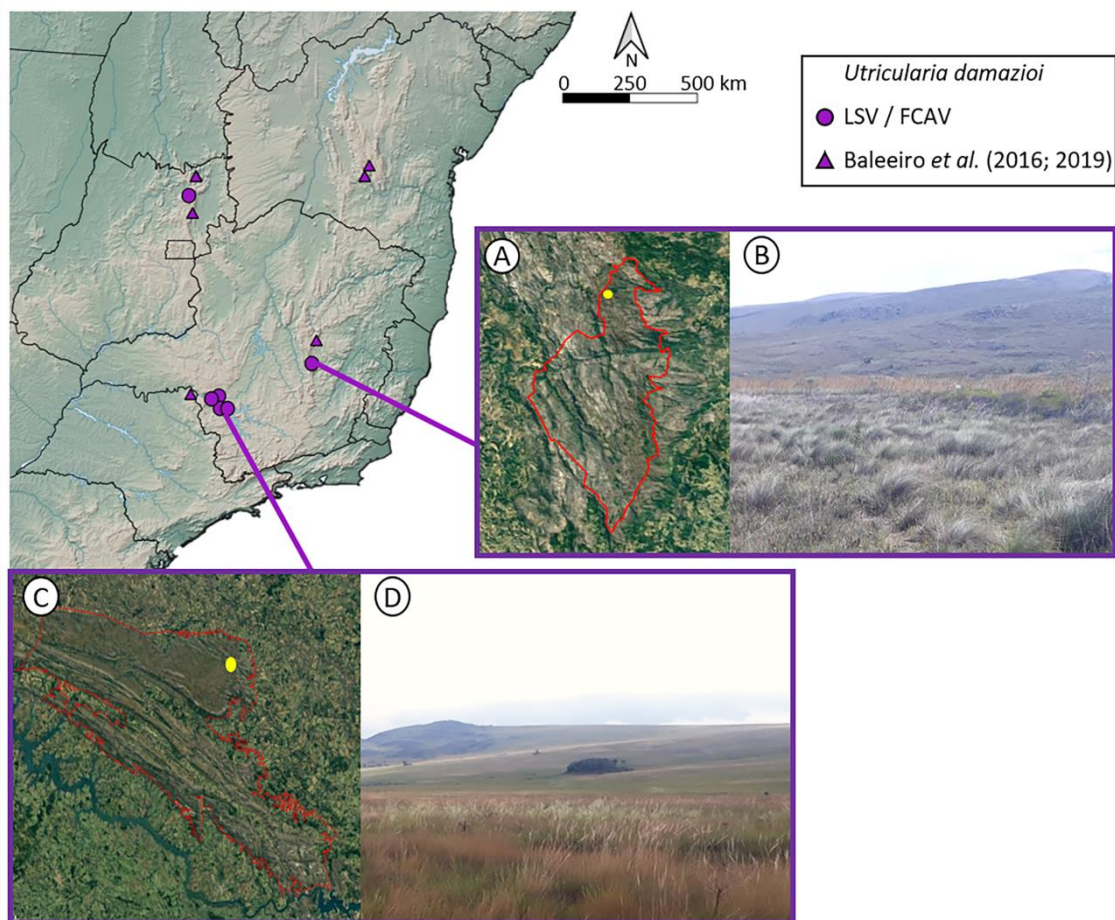
Figure 7. Color of the corolla and floral guides of *Utricularia damazioi*. Mean reflectance curves and standard deviation of fuchsia flowers (A) corolla, (D) guides; Mean reflectance curves and standard deviation of lilac flowers (B) corolla, (E) guides; Color hexagon representing the color loci of fuchsia (red dots) and lilac (blue dots) flowers against a background of standard green leaves (AV400) based on sensitivity of photoreceptors of *Bombus terrestris*, (C) corolla, (F) guides.



SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

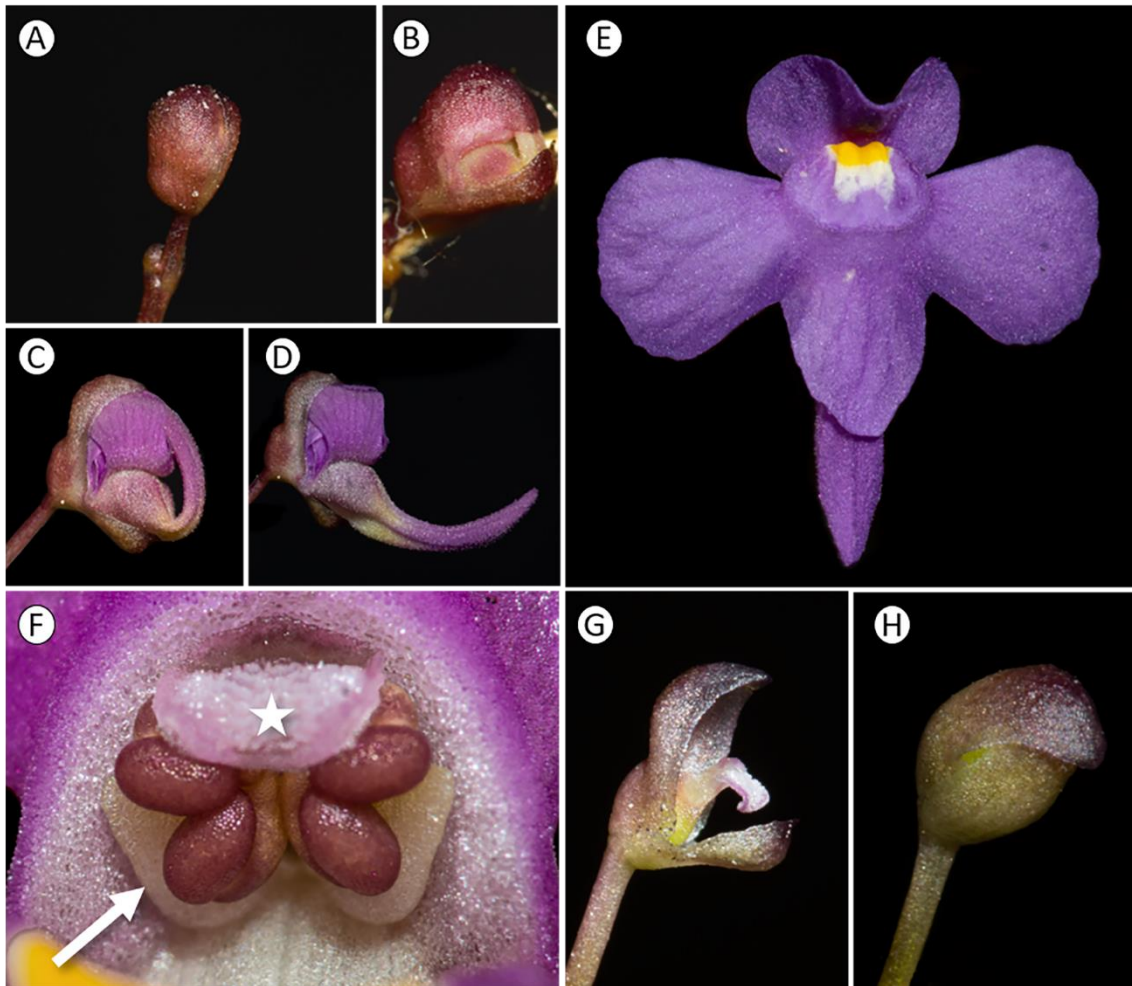
Appendix S1. Known populations of *Utricularia damazioi*, sources: Laboratory of Vegetal Systematics (LSV/ FCAV) – UNESP, Jaboticabal (SP), and, Baleeiro *et al.* (2016; 2019). Populations studied (yellow dots): (A) Location of the population studied within the limits of PARNA Serra do Cipó (MG) and (B) respective habitat; (C) Location of the studied population within the limits of PARNA Serra da Canastra and (D) respective habitat.



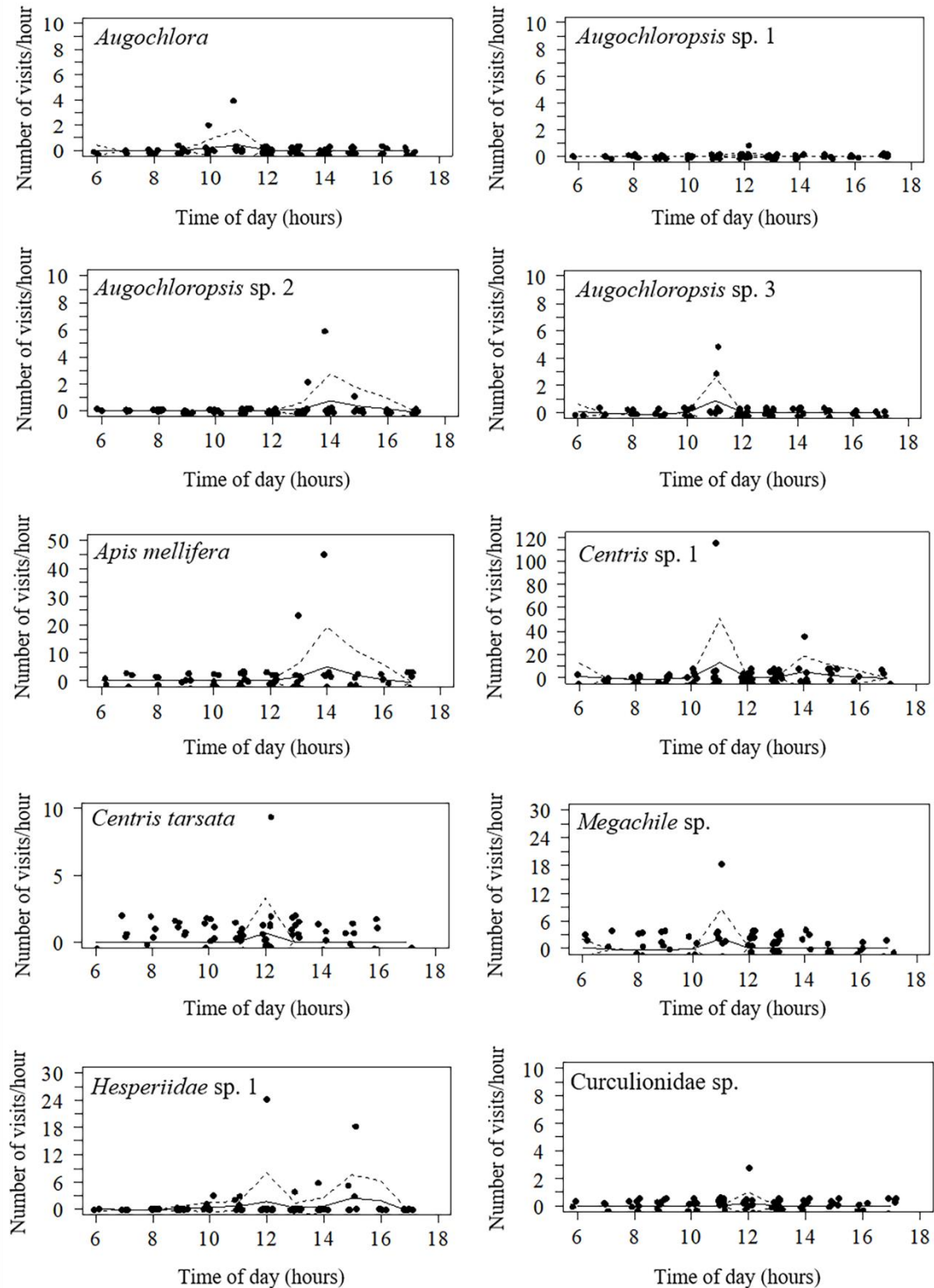
Appendix S2. Observation sites sampled in the populations of *Utricularia damazioi* studied, their area, density, number of hours and days observed and flowers visited.

Observation sites	Area (m ²)	Observation			Visited flowers
		Density (flowers/m ²)	Hours	Days	
Population 1					
1	5	43.3	37h	2	1
2	125	102.6	10h40	3	97
3	20	71.3	49h20	6	39
4	50	79.3	9h30	3	24
5	125	94.3	11h30	2	8
6	25	42	18h	1	28
7	100	10	12h	1	0
Population 2					
1	41.25	6.2	27h30	5	3
2	65.7	0.86	47h30	5	15

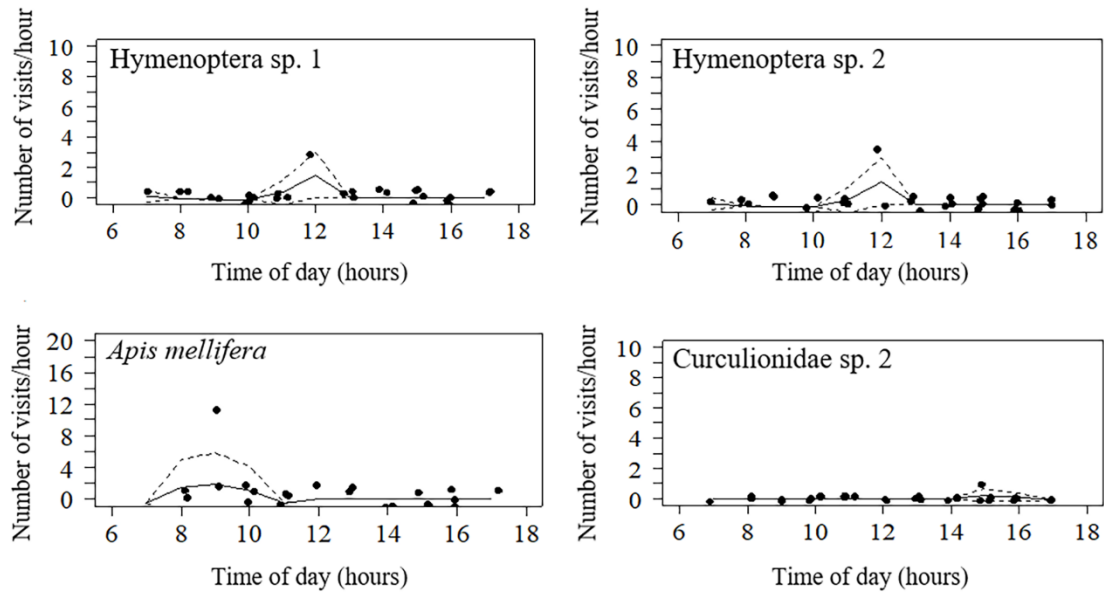
Appendix S3. Flowers and floral structures of *Utricularia damazioi*. (A) flower bud, (B) bud in the pre-anthesis phase, (C) and (D) extension of the calcar, (E) open flower, (F) functionally female flower, the star indicates lower lip of the stigma and arrow the anthers, (G) immature fruit in early development after corolla fall and (H) immature fruit.



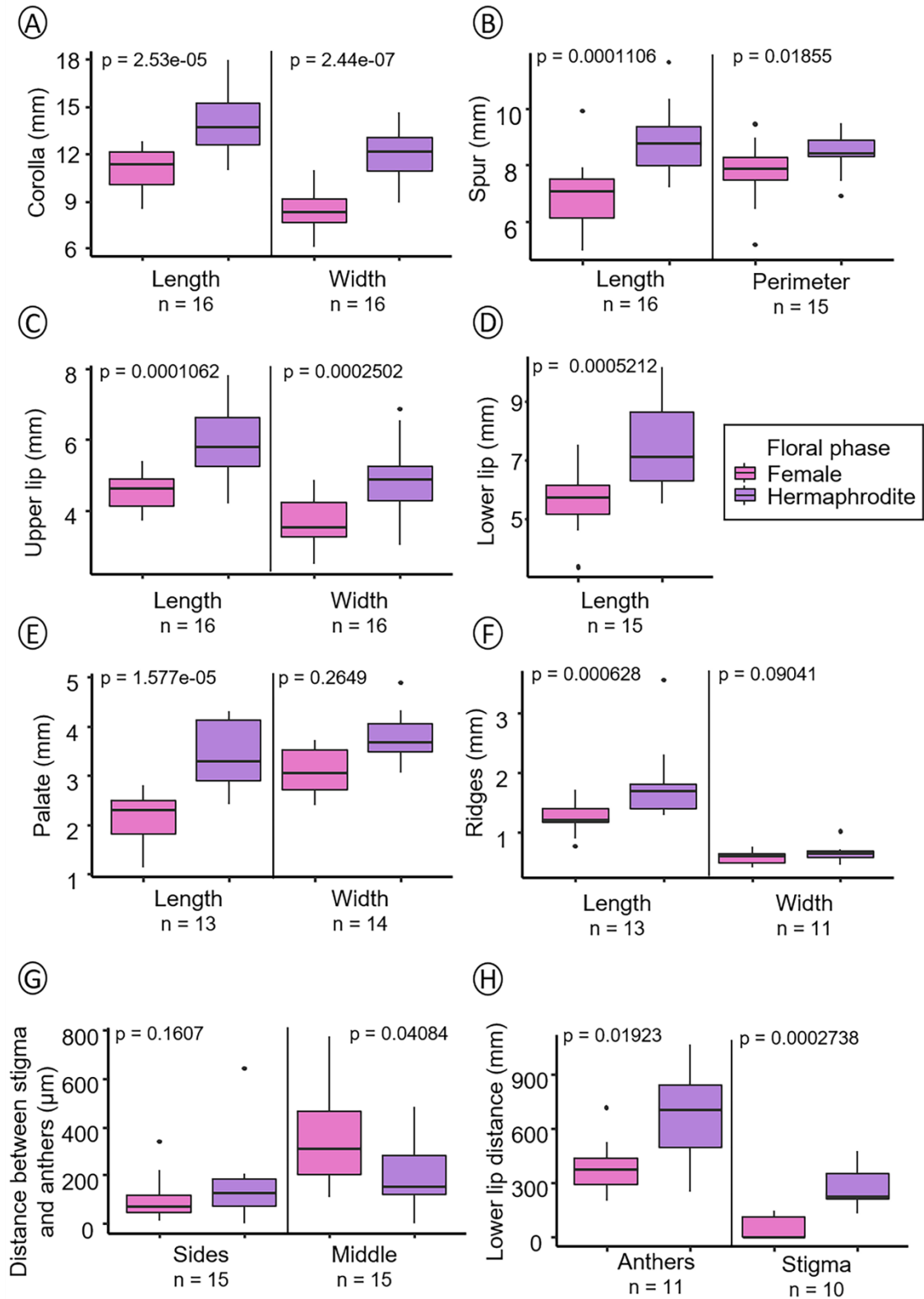
Appendix S4. Frequency of visits per hour per plant of flower visitors observed in population 1. Trend lines (solid lines) depict a visual relationship between the number of visits per hour and the time of day based on smoothing weighted local regression (LOESS). The dashed lines represent the upper limits of the 95% confidence interval. We omitted the line representing the lower bounds of the 95% confidence interval because they were zero.



Appendix S5. Frequency of visits per hour per plant of flower visitors observed in population 2. Trend lines (solid lines) depict a visual relationship between the number of visits per hour and the time of day based on smoothing weighted local regression (LOESS). The dashed lines represent the upper limits of the 95% confidence interval. We omitted the line representing the lower bounds of the 95% confidence interval because they were zero.



Appendix S6. Morphometric variables of flowers of *Utricularia damazioi* (Lentibulariaceae) in female and hermaphrodite phases. Length and width (A) of the corolla, (B) total length and perimeter of the enlarged base of calcar, length and width of (C) upper lip, (D) lower lip, (E) palate, (F) ridges, (G) distance between the lateral and medial portions of the stigma and anthers and (H) distance from the lower lip and reproductive structures.



Appendix S7. Chromatic (dS) and achromatic (dL) contrasts (mean \pm sd) between the analyzed data sets in Just Noticeable Differences (JND).

Data set	Mean \pm dp	
	dS	dL
Lower lip fuchsia flowers \times background	0.686 \pm 0.0	47.721 \pm 0.5
Lower lip lilac flowers \times background	0.652 \pm 0.0	48.124 \pm 1.6
Lower lip fuchsia flowers \times lower lip lilac flowers	0.105 \pm 0.0	1.584 \pm 1.6
Lower lip fuchsia flowers \times yellow portion of floral guides	1.261 \pm 0.3	1.881 \pm 1.1
Lower lip lilac flowers \times yellow portion of floral guides	1.163 \pm 0.1	4.209 \pm 2.1

Appendix S8. UV photograph of the corolla of *Utricularia damazioi* (Lentibulariaceae) highlighting the absence of UV patterns on the corolla.



COMPROVANTE DE SUBMISSÃO AO PERIÓDICO

21/11/2022 17:10

ScholarOne Manuscripts

 Plant Biology

 Home

 Author

Submission Confirmation

 Print

Thank you for your submission

Submitted to

Plant Biology

Manuscript ID

PlaBio-2022-11-0450-RP

Title

Sexual reproduction of the carnivorous plant *Utricularia damazioi* Beauverd (Lentibulariaceae)

Authors

Rodrigues, Fernanda

Dolsan, Hugo

Tunes, Priscila

Guimarães, Elza

Miranda, Vitor

Date Submitted

21-Nov-2022

[Author Dashboard](#)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as hipóteses propostas para o presente estudo, e levando-se em conta a carência de trabalhos em biologia reprodutiva na família Lentibulariaceae, nossos resultados forneceram pela primeira vez informações sobre o sistema reprodutivo do ponto de vista morfológico e evolutivo.

Consideramos o espaço entre o lábio inferior da corola e os órgãos reprodutivos importantes ao encaixe planta-polinizador e conseqüente sucesso da polinização. Quando aplicada empiricamente em *U. damazioi* a análise destas dimensões teve sucesso como forma de avaliação da eficiência dos polinizadores. Além desta característica, vimos a importância de acompanhamento de mudanças nas posições dos órgãos reprodutivos ao longo da antese, visto que a hercogamia temporária pode ocorrer, como garantia reprodutiva frente a condições ambientais desfavoráveis.

A avaliação da reflectância floral em conjunto com a observação do comportamento de polinizadores trouxe maior conhecimento da importância da manutenção de atrativos florais na corola, mesmo em espécies autoférteis.

Desta forma, ressaltamos que características levantadas da revisão sistemática que foram apontadas como promissoras à trabalhos de biologia reprodutiva na família, de fato quando aplicadas empiricamente trouxeram maior compreensão neste âmbito, com a espécie estudada *U. damazioi*. Assim, fornecemos subsídios teóricos que foram testados empiricamente aos próximos trabalhos de biologia reprodutiva em Lentibulariaceae.



Author Guidelines

Downloads: [Page Charge Form](#).

Editorial Policy

Plant Biology publishes research results from all fields of plant science. Manuscripts must be of general interest, not only addressed to a specialized readership. The journal encourages publications with an interdisciplinary approach.

Plant Biology accepts

1. Problem-oriented original research articles (maximum 9000 words)
2. Problem-oriented short research articles (maximum five typeset pages)
3. Concise review articles
4. Viewpoints, i.e., comments on actual problems and provocative opinion articles.
5. Short review articles (4,000 words excluding references and figures).

Purely descriptive papers will not be accepted. The Editors welcome contributions from all over the world.

Preprints

Plant Biology will consider articles previously available on preprint servers. Authors may also post the submitted version of their manuscript to preprint servers at any time. Authors are requested to update any pre-publication versions with a link to the final published article

Data Sharing and Data Accessibility

Plant Biology encourages authors to share the data and other artefacts supporting the results in the paper by archiving them in an appropriate public repository. Authors should include a data accessibility statement, including a link to the repository they have used, in order that this statement can be published alongside their paper.

Submission of Manuscripts

Please submit your manuscript online at [ScholarOne Manuscripts](#).

To submit a manuscript through ScholarOne Manuscripts, please follow these instructions:

1. If you do not yet have an account, go to <http://mc.manuscriptcentral.com/plabio> and click on 'Create Account'. You will then be sent a password by e-mail. If you already have an account, enter your user ID and password and click on 'Log In'. (Note: if necessary you can change your password under 'Edit My Account'.)
2. On the welcome page, click on 'Corresponding Author Center'.
3. You then reach the 'Author Center Dashboard', click on the star icon for manuscript submission.
4. Follow the steps 1-7 until manuscript submission is completed. The main document including title, abstract, key words (MS Word file), tables (MS Word files) and figures (*.eps, *.tif or *.jpg files) are loaded onto the system as individual files. The text should be written double spaced and with line numbering. (Note: you may also interrupt the online submission and continue at a later time.) Authors are

encouraged to provide additional information as Supporting Information that will be accessible online.

5. **Fast-Track Publication:** *Plant Biology* offers special handling of manuscripts that have been rejected from very high-level journals. Authors are encouraged to enclose the original manuscript, the reviews plus the comments from the editor, and the revised manuscript of previously reviewed manuscripts to expedite their handling as your manuscript may be accepted based on the previous reviews. Please also include a letter with a point by point response to the concerns raised by the reviewer(s). You will receive a final decision from the Managing Editor within a few days of submitting manuscripts with reviews.

6. Authors should address the following points in their cover letter. 1. What are the aims and hypothesis of their paper?; 2. What new achievements or innovations do they present?; 3. What is the general significance of their paper and why is it timely?

7. Submission of your manuscript will be confirmed by an e-mail that will give you the 'Manuscript ID Number'. Please refer to this number in all correspondence with the editorial office. With your submission, you guarantee that all co-authors agree with the submission of the manuscript.

Should you encounter difficulties submitting a manuscript to ScholarOne Manuscripts, please contact the editorial office by e-mail at annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de. Help is also available on the introductory page of ScholarOne Manuscripts in the form of an 'Online User's Guide'. To access the guide, click on 'Get Help Now' in the top right-hand corner.

Online production tracking is now available for your article through Wiley's Author Services

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript.

Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Conditions for Publication

Research articles may be submitted that have not been published previously, even as a summary.

Concise presentation is required. Although the non-specialist reader should be kept in mind when abstracts, introductions and discussions are written, lengthy review type introductions and speculative discussions should be avoided. Experimental methods should be explained in detail except for standard procedures. Diffuse and repetitive style should be avoided. Illustrations and tables should be limited to the truly essential material.

Plant Biology preferentially publishes **short research articles** (five typeset pages maximum) that will be reviewed with high priority.

Concise review articles that synthesize the state of the art in an original way are highly desirable for this journal.

Viewpoint contributions should contain brief comments on an actual problem (2-3 typeset pages).

Short review articles should be 4,000 words in length excluding references and figures.

CrossCheck for plagiarism: All submissions will be run through CrossCheck to identify any plagiarism. If an author is found to have plagiarized all or parts of his or work, the author's institute will be notified of the breach of scientific conduct.

Article Preparation Support

[Wiley Editing Services](#) offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence. Also, check out our resources for [Preparing Your Article](#) for general guidance about writing and preparing your manuscript

Length of Papers

Papers should not exceed 8 printed pages. One typeset page in the journal (without figures and tables, with about 3 subheads and paragraphs) usually contains roughly 6200 characters. The number of figures plus tables should not exceed 9 (usually not more than 4 sub-figures) and should be factored into the

page count, as should the reference list. Appendices will be published as Supporting Information rather than in the main text.

References: About 40 to 50 references usually fill one printed page.

Supporting Information: Authors are encouraged to provide additional materials as Supporting Information that will be accessible online. Please identify the Supporting Information as such and include appropriate figure and table captions at the end of the manuscript.

Page Charges: Original research papers longer than the guidelines given above when in proof are subject to a page charge at a rate of €125 per page above the 8-page limit (first 8 pages are free of charge). An invoice will be sent to authors for these charges upon publication of their article in an issue. Review articles are excluded from this rule. Waiving of page charge will not be accepted.

Arrangement

Research articles

Title page: The first page of each paper should indicate: The title, the authors' names and affiliations, a short title for use as running head, the name, address, e-mail address, phone and fax number of the corresponding author, 3 to 7 keywords, and a one-sentence summary of the key message of the paper.

Abbreviation: List with abbreviations where appropriate.

Abstract: The abstract must be usable as a stand-alone document and must not exceed 250 words. For all papers submitted from 2016 onwards, a structured abstract is required using four bullet points to indicate (1) the research conducted including its rationale, (2) central methods applied, (3) key results, and (4) main conclusions including key points of discussion. It should not contain citations of other papers. For reviews, bullet points do not apply.

The following sections cover the usual contents: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References (see below), Tables (see below), Figure legends (see below), Illustrations (see below).

In Materials and Methods, Results and Discussion subheadings are possible. If an author chooses to combine sections Results and Discussion, an additional section Conclusions can be added, but this must be brief.

Concise review articles

Choose subheadings as appropriate but do not use a numbering system. Title page, Key words, Abstract and other items as for full length papers.

Tables

Tables must be serially numbered in Arabic numerals and each must carry a brief descriptive heading. Tables reproduced from other publications must state their precise source. Only signs that can be typeset should be used in the tables and legends. Please provide Tables in Word and include them at the end of the manuscript after the References, each on a separate page. Refrain from using both tables and graphs to demonstrate the same results.

Figures and Graphics

Electronic artwork

It is essential that all artwork is provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Post-script (EPS) format and bitmap files (e.g. half-tones) in Tagged Image Format (TIFF). Detailed information on our digital illustration standards is available at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Please do not embed any tables and/or figures in the text document.

If you should encounter difficulties upon submitting figures and graphics, please contact the editorial office by e-mail under annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de or by telephone under ++49/(0)761/203-8300.

References

The list of references must include all (but no additional) references quoted. A maximum of 100 references are allowed. Arrange references alphabetically according to author name, not chronologically. The name of the journals containing the cited papers should be given in full. Town/city and country names should be provided for non-journal refs.

Each article reference should be given as in the following example:

Alfano J.R., Collmer A. (2004) Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defence. *Annual Review Phytopathology*, **42**, 385–414.

Books or other non-serial publications which are quoted in the references must be cited as follows:

Gage J.D., Tyler P.A. (1991) *Deep-sea Biology: A Natural History of Organisms at the Deep-sea Floor*. Cambridge University Press, Cambridge, UK: 504 pp.

Lester R.N., Hasan S.M.Z. (1991) Origin and domestication of the brinjal eggplant, *Solanum melongena*, from *S. incanum*, in Africa and Asia. In: Hawkes J.G., Lester R.N., Nee M., Estrada N. (Eds), *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew; London, UK: 369-387.

Articles not yet published may only be cited if they have definitely been accepted for publication. They must be denoted by the expression 'in press'.

We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting.

Data Citations

In recognition of the significance of data as an output of research effort, Wiley has endorsed the FORCE11 Data Citation Principles and is implementing a mandatory data citation policy. Plant Biology requires data to be cited in the same way as article, book, and web citations and authors are required to include data citations as part of their reference list.

Data citation is appropriate for data held within institutional, subject focused, or more general data repositories. It is not intended to take the place of community standards such as in-line citation of GenBank accession codes.

When citing or making claims based on data, authors must refer to the data at the relevant place in the manuscript text and in addition provide a formal citation in the reference list. We recommend the format proposed by the Joint Declaration of Data Citation Principles:

[dataset] Authors; Year; Dataset title; Data repository or archive; Version (if any); Persistent identifier (e.g. DOI)

Graphical abstracts

Plant Biology is excited to offer **Graphical Abstracts** to authors to introduce and expand on their research in a more visual and dynamic way. Upon acceptance of the manuscript, the authors should be prepared to submit a self-explanatory graphical abstract to the editorial office and to deposit the original data in a data repository or archive and provide the persistent identifier (eg DOI). This is an essential requirement before the manuscript can be forwarded to production.

o Instructions on how to submit a Graphical Abstract:

Immediately after acceptance of a manuscript, the authors should:

- prepare a .doc file which includes:
 - the article title;
 - the authors' names (corresponding author indicated by an asterisk); and
 - a 1-sentence summary (maximum 200 characters) summarizing the key findings presented in the paper.
- Submit a figure that:
 - best represents the scope of the paper;
 - o is in .tiff or .eps file formats;
 - o is within the dimensions of 50mm x 60mm; and

o has a minimum resolution of 300 dpi.

- Avoid graphs and other figures with fine detail due to the relatively small size of this image.
- Entitle the .doc file and figure file 'Graphical Abstract' and upload to ScholarOne Manuscript (S1M) during the manuscript submission process.

Without this information the manuscript will not be forwarded to production.

Units

Plant Biology will follow the system of SI units (Système International d'Unités). Within a given paper chosen units must be uniform.

Abbreviation

Note that common abbreviations can be used without explanation. Others must be explained. In case of doubt always give an explanation. Use FW = fresh weight and DW = dry weight.

Scientific Names

Scientific names should be cited in their complete form when first mentioned with genus - species - authority - cultivar (cv.) or subspecies (ssp.) where appropriate. Latin names should be underlined or typed in *italics*. Subsequently the generic names should be abbreviated, but avoid confusion: e.g. use *A. comosus* if the only genus with a first letter A in your paper is *Ananas*; but use unambiguous abbreviations if you have more than one genus with the same first letter, e.g. *Ananas comosus*, *Aechmea nudicaulis* = *A. comosus*, *Ae. nudicaulis*, etc. Common names of organisms must be accompanied by the correct scientific name when first mentioned. For rare or exotic genera it may be useful to give the name of the family and/or higher taxon in brackets when first mentioned.

Copyright

Authors will be required to assign copyright of their paper to the German Society for Plant Sciences, Royal Botanical Society of the Netherlands and Wiley. Copyright assignment is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright should tick relevant box on the form). The publishers will not refuse any reasonable request by authors for permission to reproduce their contributions to the journal.

Reprints

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. The corresponding author will be asked to provide up to seven email addresses for early distribution of a PDF offprint by the publisher. Paper offprints of the printed published article may be purchased if ordered via the method stipulated on the instructions that will accompany the proofs. Printed offprints are posted to the correspondence address given for the paper unless a different address is specified when ordered. Note that it is not uncommon for the printed offprints to take up to 8 weeks to arrive after publication of the journal. For further information please contact C.O.S. Printers PTe Ltd, 9 Kian Teck Crescent, Singapore 628875; Fax: +65 6265 9074; E-mail: offprint@cosprinters.com.

Author material archive policy

Please note that unless specifically requested, the Publisher will dispose of all hardcopy or electronic material submitted 2 months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible after the final decision about publication.

Production

You will receive a proof of your article approximately 4 weeks after acceptance. The proof will contain instructions on how to return corrections and answers to the queries listed at the end of the proof.

Article Promotion Support for Plant Biology Authors

[Wiley Editing Services](#) offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research – so you can help your research get the attention it deserves.