



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA/ÁREA DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

TÚLIO FREITAS FILGUEIRA DE SA

**POLIMORFISMO FLORAL E POLINIZAÇÃO EM *Palicourea coriacea* (Cham.)
K. Schum. (RUBIACEAE) NO CERRADO DO BRASIL**

RECIFE

FEVEREIRO DE 2018

TÚLIO FREITAS FILGUEIRA DE SÁ

POLIMORFISMO FLORAL E POLINIZAÇÃO EM *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. (RUBIACEAE) NO CERRADO DO BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutor em Botânica.

Orientadora: Dra. Cibele Cardoso de Castro

Co-orientador: Dr. Hélder Nagai Consolaro

RECIFE

FEVEREIRO DE 2018

TULIO FREITAS FILGUEIRA DE SÁ

**POLIMORFISMO FLORAL E POLINIZAÇÃO EM *Palicourea coriacea* (Cham.)
K. Schum. (RUBIACEAE) NO CERRADO DO BRASIL**

Aprovado pela banca examinadora em 23 de fevereiro de 2018.

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Cibele Cardoso de Castro
Orientadora
Presidente da banca

Dra. Maria Teresa Aureliano Buril Vital
Suplente interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dra. Isabel Cristina Sobreira Machado
Membro externo
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Christiano Peres Coelho
Suplente Externo
Universidade Federal de Goiás

Dra. Zelma Glebya Maciel Quirino
Membro externo
Universidade Federal da Paraíba

Dr. Ênio Woclyli Dantas
Membro interno
Universidade Estadual da Paraíba

Dr. Natan Messias de Almeida
Membro interno
Universidade Estadual de Alagoas

**RECIFE
FEVEREIRO DE 2018**

Dedico
À minha família,
peessoas que considero especias e a
todos que contribuíram para conclusão da tese

AGRADECIMENTOS

A minha amada família, em especial aos meus pais, irmã e sobrinho pelo incondicional apoio e esforço ao longo dessa caminhada. Agradeço ainda pelos meus tios e primos, que também são verdadeiros pais e irmãos. Obrigado família por todo amor e gratidão depositado durante todos esses anos.

A orientadora Cibele Cardoso de Castro pela confiança e apoio ao longo do meu doutorado e sempre solicita quando necessitava de sua ajuda.

Ao professor Hélder Nagai Consolaro, por participar do meu crescimento profissional desde a época do mestrado, dando continuidade no meu doutorado. Obrigado pela confiança e pela orientação.

A minha orientadora Rocio Perez Barrales, obrigado por fazer parte desse trabalho. Você foi essencial para o meu amadurecimento como pesquisador.

A capes pela concessão da bolsa

Aos integrantes do laboratório de biologia reprodutiva de Catalão, Bené, Joicy Bahia, Joicy Goiânia, Marco Túlio, Rafael e Vanessa. Obrigado pelas valiosas discussões e por toda ajuda de campo durante todos esses anos.

Agradeço a Ageu Sousa por todo auxílio durante algumas coletas e a ajuda nas correções ortográficas do manuscrito.

A minha amiga e irmã Nana, meu muito obrigado. Você é muito importante na minha vida.

A todos os meus amigos da república Tapera do Lago (Gustavo, Marina, Ingrid, Letícia, Baby, Silvinha) muito obrigado por todo apoio e amizade de todos vocês. Gustavo obrigado pela auxílio no campo.

A minha orientanda Jéssica, aprendemos muito juntos.

A todos que fazem parte da Reserva Ecológica do IBGE, em especial a Betânia.

Ao professor Ênio Dantas, te agradeço por ceder o laboratório de botânica da UEPB durante todo esse tempo.

Obrigado a Técnica do laboratório da UEPB pelo auxílio

Aos amigos do laboratório de botânica da UEPB, vocês também fazem parte desse trabalho. Írma, te agradeço pelo apoio durante tanto tempo nas análises de laboratório. Thayna e Davi, sempre muito dispostos a ajudar. Milena obrigado pelo apoio na tese e pelas saudáveis conversas na hora do lanchinho. Agradeço também a Alan e Natália.

Ao professor e amigo Christiano, agradeço por todas as discussões e coletas que fizemos juntos, obrigado cara.

Professor Paulo Eugênio pelas valiosas sugestões ao meu trabalho.

A secretária da pós-graduação e amiga Kênia por toda ajuda e compreensão ao longo desses anos.

Ao professor Reginaldo, obrigado por ter cedido o laboratório.

A Cristóvão e Alba sempe solícitos, obrigado pela contribuição na impressão da tese.

A Valdenora (Dodó) por todo cuidado e dedicação que tem comigo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO GERAL	xii
GENERAL ABSTRACT.....	xiii
1.0 INTRODUÇÃO GERAL	1
2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Hecogamia recíproca	3
2.2 Influência dos polinizadores	4
2.3 Distribuição da heterostilia na família Rubiaceae	5
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
4.0 POLIMORFISMO FLORAL ASSOCIADO A INACURÁCIA DAS FLORES EM POPULAÇÕES NATURAIS DE <i>Palicourea coriacea</i> (RUBIACEAE) NO CERRADO DO BRASIL	13
RESUMO	15
INTRODUÇÃO.....	16
MATERIAL E MÉTODOS.....	18
Áreas de estudo	18
Caracterização do morfos florais	18
Análise de inacurácia para flores dimórficas	19
Dados de revisão bibliográfica	21
Avaliação da distância geográfica com os valores da inacurácia	21
RESULTADOS	21
DISCUSSÃO	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
MATERIAL SUPLEMENTAR	40
5.0 EFEITO DA COMPETIÇÃO MEDIADA POR POLINIZADORES ENTRE DUAS ESPÉCIES DIMÓRFICAS QUE CO-FLORESCEM.....	45
RESUMO	47
INTRODUÇÃO.....	48
MATERIAL E MÉTODOS.....	50
Área de estudo e espécies	50
Fenologia de floração.....	51

Análise de inacurácia intra e interespecífica.....	51
Visitantes florais, remoção e deposição de pólen em condições naturais.....	52
Remoção de pólen nas anteras e transferência de pólen para os estigmas sob condições experimentais	54
Análise dos dados	54
RESULTADO	55
Fenologia de floração.....	55
Análise de inacurácia intra e interespecífica.....	56
Visitantes florais	56
Remoção e deposição de pólen em populações naturais	57
Remoção de pólen nas anteras e transferência de pólen para os estigmas sob condições de controle.....	58
DISCUSSÃO	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	63
6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
7.0 ANEXOS	79

LISTA DE FIGURAS

MANUSCRITO 1: Polimorfismo floral associado à inacurácia das flores em populações naturais de *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae) no Cerrado do Brasil

Figura 01. Caracterização dos morfos florais em populações de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae). A) Morfo homostilo, B) Morfo longistilo e C) Morfo brevistilo.....37

Figura 02: Variação da altura do pistilo (●) e altura do estame (○) nas doze populações de *P. coriacea* no Cerrado do Brasil Central. Algarismos romanos representam cada população. I- Reserva do IBGE/DF; II- Tangará da Serra/MT; III- Costa Rica/MS; IV- Jataí/GO; V-Serranópolis/GO; VI- Fazenda São Roque - Serranópolis/GO/ VII- Pires Belo/GO; VIII- Pescan – Caldas Novas/GO; IX- Trilha do tatu – Anápolis/GO; X- Rebio Professor José Ângelo Rizzo- Goiás/GO; XI- Fazenda – Cristalina/GO; XII- Parque Serra dos Pirineus – Pirenópolis/GO.....38

Figura 03. Localização geográfica e inacurácia de 12 populações de *Palicourea coriacea* no Cerrado.....39

MANUSCRITO 2: Efeito da competição mediada por polinizadores entre duas espécies dimórficas que co-florescem

Figura 01. Fenologia de floração de *Palicourea coriacea* (linha tracejada) e *Palicourea officinalis* (linha contínua) durante o período de coleta, totalizando 10 semanas69

Figura 02. Número médio de visitas ao longo do dia em *Palicourea coriacea*. A cor preta representa apenas *P. coriacea* (ANT), a cor cinza e branca representa manchas monoespecíficas de *P. coriacea* (MON) e cofloração (COF) respectivamente.....70

Figura 03. Número médio de visitas de *Bombus atratus* ao longo do dia em *P. coriacea* e *P. officinalis* na mancha cofloração (COF).....71

Figura 04. Número total de visitas de *Bombus atratus* no tratamento cofloração em ambas espécies de *Palicourea* (COF) e mancha solitária (MON).....71

Figura 05. Taxa de liberação de pólen na antera no tratamento com apenas *Palicourea coriacea* (ANT), e no período de sobreposição de floração na mancha monoespecífica (MON) e mancha em cofloração (COF).....72

Figura 06. Taxa de liberação de pólen sobre o estigma no tratamento com apenas *Palicourea coriacea* (ANT), e no período de sobreposição de floração na mancha monoespecífica (MON) e mancha em cofloração (COF).....72

Figura 07. Média e erro padrão na quantidade de grãos de pólen no estigma dos morfos, transferidos pela abelha de *Bombus atratus* para estigmas recíprocos (Cinza) e estigmas não recíprocos (Preto) em *Palicourea coriacea*. (***)Diferença significativa. Thrum= morfo brevistilo e Pin= morfo longistilo.....73

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO 1: Caracterização do polimorfismo floral associado a inacurácia das flores em populações naturais de *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae) no Cerrado do Brasil

Tabela 1. Estimativas da inacurácia e dados morfométricos florais de populações dimórficas de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae). * Representa as porcentagens da média medida em mm². Os valores da Inacurácia são apresentados em porcentagens da inacurácia total que somam 100%. A inacurácia total é dada por um valor absoluto.....35

Tabela 02. Estimativas da inacurácia e os diferentes componentes entre espécies e/ou populações no gênero *Palicourea*. Os valores da inacurácia são apresentados em porcentagens da inacurácia total que somam 100%. A inacurácia total é dada por um valor absoluto. Os valores de cada população nas espécies se encontra na tabela suplementar. 1= Mendonça & Anjos 2006 e Martén-Rodríguez et al. 2013; 2=Coelho 2013; 3=Valois-Cuesta et al. 2011; 4= Sobrevila 1983; 5= Pereira et al. 2006; 6= Feinsinger & Busy 1987 e Murcia & Feinsinger 1996; 7= Hernandez & Ornelas 2007; 8= Machado et al. 2010; 9= Martén-Rodríguez et al. 2013.....36

Tabela 03. Estimativas da inacurácia e os diferentes componentes entre espécies e/ou populações no gênero *Palicourea*. * Representa as porcentagens da média medido em mm². Os valores da Inacurácia são apresentados em porcentagens da inacurácia total que somam 100%. A inacurácia total é dada por um valor absoluto.....43

Tabela S1. Localização das doze populações dimórficas de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae) no Cerrado do Brasil Central.....41

Tabela S2. Estimativas da inacurácia e os diferentes componentes entre espécies e/ou populações no gênero *Palicourea*. * Representa as porcentagens da média medido em mm². Os valores da inacurácia são apresentados em porcentagens da inacurácia total que somam 100%. A inacurácia total é dada por um valor absoluto.....42

MANUSCRITO 2: Manuscrito 2: Efeito da competição mediada por polinizadores entre duas espécies dimórficas que co-florescem

Tabela 01. Desenho experimental para comparar a transferência de pólen em cada visita, realizada por *Bombus atratus* em *P. coriacea*. P=Longistilo, T=Brevistilo.....74

Tabela 02. GLMER mostrando o efeito do número de visitas em intervalo de observação, espécies de plantas visitadas e polinizadores em *Palicourea coriacea*. Apenas *P. coriacea* (ANT), mancha monoespecífica (MON) e cofloração (COF).....74

Tabela 03. Tabela 03. Resultados do modelo GLMER avaliando os efeitos do morfo, horas ao longo do dia e tratamento sobre o número de grãos de pólen depositados nas anteras e nos estigmas. Apenas *P. coriacea* (ANT), macha monoespecífica (MON) e cofloração (COF).....74

Tabela 04. Tabela 04. GLMER mostrando o efeito da quantidade de pólen nas anteras e nos estigmas após cada visita do morfo doador e receptor, respectivamente.....75

Tabela 05. Tabela 05. Resultados do número total de visitantes nos três tratamentos. Apenas *P. coriacea* (ANT), mancha monoespecífica (MON) e cofloração (COF).....75

RESUMO GERAL

A heterostilia é descrita como um polimorfismo floral caracterizado pela presença de hercogamia recíproca (HR) apresentando dois morfos florais, o morfo longistilo (estigma acima das anteras) e o morfo brevistilo (estigma abaixo das anteras). A hercogamia recíproca e a presença de um sistema de auto-incompatibilidade e incompatibilidade intramorfo são consideradas como requisitos para a caracterização das espécies distílicas. A inacurácia e a maladaptação são métodos para avaliar a hercogamia recíproca em que mede o contato dos estigmas com as anteras correspondentes, determinando ponto médio dos órgãos correspondentes e infere o grau de desvio dos órgãos sexuais correspondentes recíprocos a partir do ponto mais recíproco da flor. Em um contexto geográfico, espécies com larga distribuição estão sujeitas a apresentar maiores alterações nos traços florais devido a pressões seletivas representadas por condições do ambiente. A deposição de pólen heteroespecífica pode ser consequência de um alto grau de hercogamia recíproca (posicionamentos dos órgãos recíprocos entre morfos) interespecífica devido a contaminação de poléns de outras espécies podendo alterar a fecundação da espécie de planta. O estudo teve como objetivo caracterizar o polimorfismo de *Palicourea coriacea* e estudar o efeito na remoção e deposição de pólen de *Palicourea officinalis* sobre *P. coriacea*. No primeiro capítulo, os cálculos de HR indicam que a espécie pode ser considerada distílica, apresentando um baixo grau de inacurácia nas populações. Além disso, a variação fenotípica em *P. coriacea* é consequência da extensa variação da maladaptação entre as populações. Acredita-se que essa variação contínua no tamanho dos órgãos reprodutivos tenha um efeito positivo, tornando as populações no geral com um alto grau de hercogamia recíproca. Caracterizar o tipo de polimorfismo floral exato é essencial para realização de futuros estudos funcionais e evolutivos nesse grupo de plantas. No segundo capítulo, os resultados demonstraram competição entre as espécies cogenéricas que compartilham o mesmo polinizador. Apesar da não diferenciação do pólen entre espécies, acredita-se na deposição de pólen interespecífica em *P. coriacea*, quando as espécies compartilham o mesmo espaço de acordo com os experimentos da gaiola, visitação floral, deposição e remoção de pólen. Além disso, a hercogamia recíproca interespecífica sendo mais forte do que a intraespecífica indica que os locais de fixação de pólen no corpo do polinizador são similares à remoção e deposição em ambas espécies e ainda mais preciso em depositar pólen ilegítimo nos estigmas de *P. coriacea*. As espécies divergiram o início da fenofase reprodutiva, mas cofloresceram por 4 semanas. Entre as espécies de *Palicourea* há competição por visitas, no entanto, a presença de *P. officinalis* parece ter um efeito positivo devido o aumento no número de visitas quando *P. coriacea* não compartilha do mesmo espaço com a espécie concorrente. Sendo assim, o efeito da cofloração parece resultar no processo de competição e facilitação ao mesmo tempo de acordo com a presença e ausência da espécie concorrente.

Palavras chave: Heterostilia, inacurácia, compartilhamento de polinizador, deposição e remoção de pólen.

GENERAL ABSTRACT

The heterostyly is described as a floral polymorphism characterized by the presence of reciprocal herkogamy (HR) having two floral morphs, pin flowers (stigma above the anthers) and thrum flowers (stigma below the anthers). Reciprocal herkogamy and the presence of a system of self-incompatibility and intramorphic incompatibility are considered as requirements for the characterization of distily species. The inaccuracy and maladaptation are methods to evaluate the reciprocal herkogamy in which it measures the contact of the stigmas with the corresponding anthers, determining the mean point of the corresponding organs and infers the degree of deviation of the corresponding reciprocal sexual organs from the most reciprocal point of the flower. In a geographical context, species with wide distribution are subject to greater changes in floral traits due to selective pressures represented by environmental conditions. The deposition heteroespecífica pollen may result from a high degree of reciprocal herkogamy (reciprocal positions of organs between morphs) interspecific contamination due to pollen of other species may change the fertilization of plant species. The objectives of this study were characterize the polymorphism of *Palicourea coriacea* and to study the effect on the removal and deposition of pollen from *Palicourea officinalis* on *P. coriacea*. In the first chapter, the HR calculations indicate that the species can be considered distylous, with a low degree of inaccuracy in populations. In addition, the phenotypic variation in *P. coriacea* is a consequence of the extensive variation of maladaptation among populations. It is believed that this continuous variation in the size of the reproductive organs has a positive effect, making populations in general with a high degree of reciprocal herkogamy. Characterize the type of exact floral polymorphism is essential for realization of future functional and evolutionary studies in this group of plants. In the second chapter, the results demonstrated competition among co-generic species sharing the same pollinator. Although no differentiation between species of pollen, it is believed the deposition of interspecific pollen *P. coriacea* when the species share the same space according to the experimental cage, floral visitation, pollen deposition and removal. In addition, reciprocal herkogamy interspecific being stronger than the intraspecific indicates that the pollen attachment sites in the pollinator body are similar to the removal and deposition in both species and even more accurate in depositing illegitimate pollen on the *P. coriacea* stigmas. The species diverged early reproductive phenology, but cofloresceram for 4 weeks. Among the species of *Palicourea* there is competition for visits, however, the presence of *P. officinalis* seems to have a positive effect due to the increase in the number of visits when *P. coriacea* does not share the same space with the competing species. Thus, the effect of cofloration seems to result in the process of competition and facilitation at the same time according to the presence and absence of the competing species.

Key words: Heterostyly, inaccuracy, pollinator sharing, deposition and removal of pollen.

1.0 INTRODUÇÃO GERAL

Os padrões de variação morfológica foram uma das principais fontes de inspiração dos trabalhos descritos por Darwin (1877), em que caracteriza a heterostilia como um dos casos emblemáticos na origem e evolução dos polimorfismos florais e nos sistemas de incompatibilidade. O termo heterostilia foi utilizado primeiramente por Clusius em *Primula* em 1583 (Van Dijk 1943), porém aprofundado por Hildebrand e Darwin em meados do século XIX (Ganders 1979). Tal polimorfismo foi de grande interesse para os biólogos e botânicos devido à heterostilia apresentar características adequadas para estudos evolutivos e ecológicos referentes à biologia da polinização ao sistema reprodutivo e a estrutura populacional da espécie (Ganders 1979).

A heterostilia é um polimorfismo floral associado a um mecanismo de incompatibilidade que reduz as chances de autopolinização e os consequentes efeitos deletérios da autogamia, bem como promove a fertilização cruzada (Barrett 2002). Populações heterostílicas são compostas por dois (distilia) ou três (tristilia) morfos florais que apresentam diferenças recíprocas na altura das anteras e dos estigmas e um sistema de incompatibilidade heteromórfica, onde apenas os grãos de pólen em anteras posicionadas no mesmo nível do estigma são compatíveis (Ganders 1979, Barrett 2002). Nas espécies tipicamente distílicas, a formação de frutos requer um fluxo de pólen entre os morfotipos florais, desse modo, o sucesso reprodutivo relaciona-se à seleção dependente da frequência (Clark et al., 1988; Thompson et al., 2003). Portanto, é esperado que nestas espécies, cada indivíduo apresente um tipo de morfo floral, sendo geralmente observada uma razão equilibrada (isopleτία) de 1:1 dos morfos na população (Bir-Bahadur 1968).

O surgimento da heterostilia é baseado nas teorias existentes de transições do monomorfismo para a heterostilia que avalia o estado ancestral, os processos evolutivos e as pressões seletivas que a direciona (Barrett & Shore 2008). Nesse sentido, os modelos mais discutidos são os de Charlesworth & Charlesworth (1979) e o de Lloyd & Webb (1992). O modelo de Charlesworth & Charlesworth (1979) propõe inicialmente que a flor monomórfica apresentava um alto grau de depressão endogâmica e de acordo com mutações sucessivas o sistema de incompatibilidade evoluiu antes mesmo da hercogamia recíproca. Em contrapartida, Lloyd & Webb (1992) defendem que o posicionamento recíproco dos órgãos sexuais surgiu antes mesmo do sistema de incompatibilidade, que por sua vez seriam processos independentes das modificações morfológicas. Outras propostas foram postuladas no meio científico, porém menos discutidas como a de Anderson (1973) em que sugere a protândria como um caractere

importante na evolução da heterostilia, e por fim o modelo de Sakai & Toquenaga (2004) que propõe o surgimento da heterostilia a partir de um contínuo de variação fenotípica entre indivíduos na população além da ligação genética entre a altura dos órgãos sexuais.

Diversos estudos questionam a respeito do controle genético sob os aspectos morfológicos e fisiológicos da distília nas famílias que apresentam esse caráter dimórfico (Mather & de Winton 1941; Ganders 1979; Lewis & Jones 1992; Barrett & Shore 2008). Acredita-se que a estreita relação entre hercogamia recíproca (HR) e o sistema de incompatibilidade heteromórfico (SIH) esteja ligada a um gene denominado de “Supergene” registrada em espécies de famílias como Primulaceae (Ernst 1955) e Turneraceae (Athanasidou et al., 2003) que são grupos herbáceos e experimentalmente mais estudados (Brennan 2017). Embora não se tenha certeza da presença do supergene em todas as famílias com esse polimorfismo, o desequilíbrio do sistema distílico pode acarretar variações na morfologia e fisiologia, tornando a espécie distílica atípica, monomórfica ou homostílica (Ganders 1979).

O monomorfismo é caracterizado quando dentro de uma população é encontrado apenas um dos morfos florais, brevistilo, longistilo ou homostilo (Hamilton 1990). Devido a presença de apenas um morfo na população, a compatibilidade torna uma condição obrigatória para que ocorra a reprodução sexual, além da elevada taxa de crescimento clonal comum a essa condição morfológica (Sobrevila et al., 1983; Hamilton 1990). Dentro do monomorfismo podemos classificá-lo como “primário” ou “secundário”, sendo o último uma condição derivada da heterostilia (Baker 1958). A homostilia é reconhecida pela presença de um único morfo com estames e estigmas na mesma altura, acompanhando comumente da autocompatibilidade (Ganders 1979). Características monomórficas ou homostilas podem surgir como um caráter exclusivo de uma espécie ou população assim como dentro de uma população distílica, contendo apenas alguns indivíduos homostilos ou monomórficos (Hamilton 1990; Coelho & Barbosa 2003; Consolaro 2008). Com isso, o caráter monomórfico secundário pode estar relacionado a fatores que impeçam diretamente a transferência dos grãos de pólen compatíveis entre os morfos, como por exemplo, a fragmentação ambiental, reduzindo a quantidade de indivíduos na população ou eliminando de forma parcial ou total um dos morfos (Hamilton 1990; Endels et al., 2002).

2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Hercogamia recíproca

O trabalho clássico e inicial sobre polimorfismo floral “*The different forms of flowers*”, propõe que o posicionamento recíproco dos órgãos florais nas plantas distílicas e o processo adaptativo das flores mediado pelos polinizadores promovem a transferência de pólen legítimo, além de ser uma característica essencial para se considerar uma espécie distílica (Barrett 1992; Lau & Bosque 2003). Estudos vêm demonstrando que variações na altura dos órgãos sexuais são comuns nesse grupo dimórfico, principalmente na família Rubiaceae (Faivre & McDade 2001; Consolaro et al., 2009; Sá et al., 2016). Tais variações nos graus de HR podem gerar uma ineficiência na transferência de pólen por parte dos polinizadores, gerando algum tipo de impacto no sucesso reprodutivo do grupo, além de poder influenciar na mudança da distília típica como o monomorfismo e a homostília (Barrett 2002).

Em razão da hercogamia recíproca ser definida como um requisito básico para se considerar uma espécie distílica, uma alternativa para a caracterização mais segura do polimorfismo floral é o uso de índices de HR, os quais avaliam a correspondência na altura da antera com o estigma do morfo oposto (Ferrero et al., 2009). Assim, foram criados diferentes métodos que resultam na classificação dos casos típicos e derivados da distília através de um exame visual seguido de métodos quantitativos que avaliam o polimorfismo de cada espécie (Richards & Koptur 1993; Eckert & Barrett 1994; Faivre & McDade, 2001; Lau & Bosque 2003; Sanchez et al., 2008,2013; Zhou et al., 2015). Estudos com espécies distílicas propõem cinco índices quantitativos para calcular a altura das anteras e dos estigmas nessas populações e assim avaliar a reciprocidade nelas existente. (Richards & Koptur 1993; Eckert & Barrett 1994; Sánchez et al., 2008; 2013; Sosenski et al., 2010; Armbruster et al., 2017).

A primeira análise a respeito da hercogamia recíproca foi iniciada por Richards & Koptur (1993) propondo que, alturas iguais entre órgãos sexuais presumivelmente teriam uma capacidade máxima no fitness, ou seja, uma hercogamia recíproca perfeita. A análise foi realizada através de flores com diferentes tamanhos nas espécies da família Rubiaceae, calculados dentro de uma escala proporcional de 0 a 1, onde 0 expressa a hercogamia perfeita no morfo longistilo e/ou brevistilo. Em seguida, Eckert & Barrett (1994) sugeriram um índice em que apresenta um único valor de reciprocidade combinando a HR dos órgãos altos e baixos. Os índices de Sanchez et al. (2008; 2013), seguem parâmetros semelhantes ao trabalho de Richards & Koptur (1993) com os valores escalonados variando de 0 a 1. Segundo Armbruster et al. (2017) apesar dos índices supracitados resultarem em números matemáticos, os modelos

matemáticos sugeridos carecem de uma relação clara entre os índices e entidades biológicas propondo dessa forma o índice da inacurácia.

Os cálculos da inacurácia ou imprecisão adaptativa entre os órgãos recíprocos tem uma abordagem biológica e estabelece uma escala numérica, relacionando conceitos de morfologia funcional, ecologia e desenvolvimento evolutivo das flores (Armbruster et al., 2009). O índice da inacurácia mede o contato dos estigmas com as anteras correspondentes, determinando o ótimo da flor, ou seja, ponto médio dos órgãos correspondentes (Armbruster et al., 2017). Assumindo que os polinizadores são eficientes na transferência de pólen, quanto menor a HR maior é o aumento do desvio na combinação perfeita em transferir pólen e menores as chances de transferir pólen legítimo nas flores distílicas (Haller et al., 2014). Para muitos pesquisadores, os índices de HR geram valores que avaliam as consequências do *fitness* das plantas dimórficas entre os órgãos correspondentes compatíveis (Armbruster et al., 2017; Sanchez et al., 2008; 2013). Sendo assim, tal correspondência representa a posição perfeita no corpo do polinizador onde o pólen será depositado pelas anteras e capturada pelo estigma, um termo em inglês denominado *disassortative pollination* (Darwin 1877; Ganders 1979; Barrett 2002; Barrett & Shore 2008).

Um trabalho realizado com *Palicourea fendeleri* demonstra que os órgãos baixos (antera longistila e estigma brevistilo) foram mais eficientes na deposição de pólen legítimo comparado com os órgãos altos (antera brevistila com estigma longistilo), reflexo de uma maior reciprocidade (Lau & Bosque 2003). Ree (1997), avaliando a deposição de pólen entre os morfos em *Palicourea padifolia*, constatou que, apesar dos estigmas apresentarem cargas semelhantes de pólen, os órgãos altos foram mais eficientes em receber pólen legítimo, apresentando uma maior quantidade de sementes. Dessa forma, todos esses estudos têm demonstrado a importância dos polinizadores intermediados pela HR nos processos de polinização nas espécies distílicas.

2.2 Influência dos polinizadores

Os polinizadores constituem importantes pressões seletivas, norteadas a diferenciação evolutiva do fenótipo floral (Johnson 2006; Anderson & Johnson 2008; Pauw et al., 2009; Peter & Johnson 2014; Van der Niet et al., 2014). O conjunto de caracteres florais relacionados aos polinizadores é bastante amplo (perianto, tamanho e forma dos órgãos sexuais, recompensa floral) e pode se apresentar de modo contínuo ou discreto dentro ou entre as populações vegetais (Santos-Gally et al., 2013). A maioria dos estudos referentes a essas diferentes variações florais intra e interpopulacionais e de polinização são com espécies heterostílicas (Barrett 2002). Essa diferenciação na morfologia floral pode ser consequência de uma interação entre a planta e a

fauna de polinizadores locais (Grant & Grant 1965, Stebbins 1970). Segundo Herrera et al., (2006), os ecótipos de polinização representam um mosaico geográfico de polinizadores no qual as plantas localmente se adaptam na sua estrutura morfológica em razão das variedades de polinizadores, baseado no modelo de Grant-Stebbins (Johnson 2006). Apesar do conhecimento sobre a pressão mediada pelo polinizador na mudança da morfologia floral, tal afirmação não pode ser atribuída como um padrão para todas as espécies (Herrera 2005; Lambrecht & Dawson 2007).

Um estudo realizado com espécies de *Palicourea* em três áreas do Cerrado no Distrito Federal revelou variações morfológicas, dentre elas, *Palicourea coriacea* que além de apresentar um terceiro morfo atípico na área foi visitada por diferentes grupos visitantes florais, como abelhas e beija-flores (Consolaro et al., 2009). Assim sendo, *Palicourea coriacea* é considerado uma espécie modelo para estudos com variação morfológica da heterostilia e estudos com interações mutualísticas na polinização. Do mesmo modo, é comum a variação no fluxo assimétrico e da HR entre espécies e populações de *Palicourea*, além dos diferentes polinizadores registrados no gênero (Coelho & Barbosa 2003; Consolaro et al., 2009; Machado et al., 2010; Valois-Cuesta et al., 2011).

2.3 Distribuição da heterostilia na família Rubiaceae

A família Rubiaceae representa cerca de 650 gêneros e 12000 espécies sendo considerada a quarta maior dentro das angiospermas (Delprete et al., 2004) e uma das famílias mais importantes do Brasil, constituída por 130 gêneros e cerca de 1500 espécies (Sousa & Lorenzi 2005). Além disso, é considerada umas das famílias mais ricas dentre as 26 que apresentam a distilia como característica (Ganders 1979). O gênero *Palicourea* Aubl., é amplamente distribuída nos trópicos e inclui em média 250 espécies subarbustivas e arbustivas (Mabberley 1987). Especificamente, *Palicourea coriacea* é uma espécie comum do Cerrado, com distribuição desde o Nordeste até os estados de São Paulo e Paraná e Leste da Bolívia. Possui o hábito subarbustivo e até 1,2 m de altura, com floração anual no início da estação chuvosa. Suas inflorescências corimbosas são amarelas com uma densa aglomeração de brácteas eretas preenchendo todo o seu interior (Delprete 2010). Suas flores hermafroditas apresentam corola tubular com cinco estames epipétalos, um pistilo, são nectaríferas e comumente polinizadas por abelhas e beija-flores (Consolaro et al., 2009).

A heterostilia está presente em 28 famílias, sendo Rubiaceae o grupo botânico que contém o maior número de gêneros distílicos, como por exemplo *Palicourea* e *Psychotria* (Ganders 1979; Lloyd & Webb 1992; Castro et al., 2004; Mendonça & Anjos 2006; Hernandez & Ornelas 2007; Pereira et al., 2006; Barrett & Shore 2008; Valois-Cuesta et al., 2009;

Consolaro et al., 2009). Dentre os estudos de caso com variações atípicas da distília, o monomorfismo parece ser comum na família Rubiaceae como em *Chiococca alba* (L.) Hitchc. (Castro et al., 2008), *Mannetia cordifolia* Mart. (Consolaro et al., 2005), *Palicourea crocea* (Sw.) Roem. & Schult, (Costa & Machado 2017), *Palicourea petiolaris* Kunth (Sobrevila et al., 1983), *Psychotria hygrophiloides* Benth. (Pereira et al., 2006), *P. carthagenensis* (Consolaro et al., 2011), *P. goyazensis* Müll. Arg. (Rodrigues & Consolaro 2013) e *P. prunifolia* (Sá et al., 2016). Homostília também é comum na família e especificamente no gênero *Palicourea*, tais como *P. macrobotrys* (Ruiz & Pav.) DC. (Fileto Dias 2011; Coelho & Barbosa 2003; Toledo et al., 2007; Consolaro et al., 2009) e *P. virens* (Poepp. & Endl.) Standl. (Santos et al., 2008). Apesar de todos os registros atípicos na família Rubiaceae discutidos acima, os estudos ainda são realizados com espécies isoladas, necessitando assim de investigações que avaliem a distília e suas variações em diversas populações para maior compreensão morfológica dessas espécies.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, B.; JOHNSON, S.D. 2008. The geographical mosaic of coevolution in a plant–pollinator mutualism. *Evolution* 62: 220–225.
- ANDERSON, W. R. 1973. A morphological hypothesis for the origin of heterostyly in the Rubiaceae. *Taxon* 22:537-542.
- ARMBRUSTER, W. S.; HANSEN, T.F.; PÉLABON, C.; PÉREZ-BARRALES, R.; & MAAD, J. 2009. The adaptive accuracy of flowers: measurement and microevolutionary patterns. *Annals of Botany*, 103(9): 1529-1545.
- ARMBRUSTER, W.S.; BOLSTAD, G.H.; HANSEN, T.F.; KELLER, B.; CONTI, E.; PÉLABON, C. 2017. The measure and mismeasure of reciprocity in heterostylous flowers. *New Phytologist*.
- ATHANASIOU, A., D.; KHOSRAVI, F.; TAMARI, F.; SHORE. J.S.; 2003. Characterization and localization of short-specific polygalacturonase in distylous *Turnera subulata* (Turneraceae). *American Journal of Botany* 90: 675-682.
- BAKER, H. G. 1958. Studies of the reproductive biology of West African Rubiaceae. *J. West Afr. Sci. Assoc* 4:9-24.
- BARRETT S.C.H. 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. In: Barrett SCH (ed) *Evolution and function of heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin 1–29.
- BARRETT S.C.H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Genetics* 2 : 274–284.
- BARRETT S.C.H.; SHORE J.S. 2008. New insights on heterostyly: comparative biology, ecology and genetics. In: Franklin-Tong VE, ed. *Self-incompatibility in flowering plants: evolution, diversity, and mechanisms*. Berlin: Springer-Verlag: 3–32.
- BIR BAHADUR 1968. Heterostyly in Rubiaceae: a review. *Journal of Osmania University (Science) Golden Jubilee Special Volume*: 207-238.
- BRENNAN, A. C. 2017. Distyly supergenes as a model to understand the evolution of genetic architecture. *American journal of botany*, 104(1): 5-7.
- CASTRO, C.C.; OLIVEIRA, P.E.A.M.; ALVES, M.C. 2004. Breeding system and floral morphometry of distylous *Psychotria* L. species in the Atlantic rain forest, SE Brazil. *Plant Biology* 6:755–760. doi:10.1055/s-2004-830349

- CASTRO, C.C.D.; OLIVEIRA, P.E.A.M.D.; PIMENTEL, R.M.D.M. 2008. Reproductive biology of the herkogamous vine *Chiococca alba* (L.) Hitchc.(Rubiaceae) in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. *Brazilian Journal of Botany* 31(2): 317-321.
- CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B. 1979. A model for the evolution of distyly. *American Naturalist* 114: 467–498
- CLARK, B. C., L. PARTRIDGE, AND A. ROBERTSON. 1988. Frequency-dependent selection. Cambridge University Press, New York, USA.
- COELHO, C.P.; BARBOSA, A.A.A. 2003. Biologia reprodutiva de *Palicourea macrobotrys* Ruiz & Pavon (Rubiaceae): um possível caso de homostilia no gênero *Palicourea* Aubl. *Revista Brasileira de Botânica* 26:403-413.
- CONSOLARO, H., 2008. A distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado. PhD Dissertation, Universidade de Brasília, Brasil.
- CONSOLARO, H.; SILVA S.C.S.; OLIVEIRA, P.E. 2011. Breakdown of distyly and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Plant Species Biology* 26: 24–32.
- CONSOLARO, H.; SILVA, E.B.; OLIVEIRA, P.E. 2005. Variação floral e biologia reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 28:85-94.
- CONSOLARO, H.; TOLEDO, R.D.P.; FERREGUTI, R.L.; HAY, J.; OLIVEIRA, P.E. 2009. Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil central. *Revista Brasileira de Botânica* 32: 677–689.
- COSTA, A.C.G.; MACHADO, I.C. 2017. Pin-monomorphism in *Palicourea crocea* (SW.) Roem. & Schult.(Rubiaceae): reproductive traits and role of floral visitors. *Brazilian Journal of Botany*: 1-8.
- DARWIN, C. 1877: The different forms of flowers on plants of the same species. London, Murray.
- DELPRETE, P.G. 2010. *Flora dos Estados de Goiás e Tocantins: Rubiaceae/ Piero Giuseppe Delprete*: Coordenador José Ângelo Rizzo – Goiânia: PRPPG/UFG e IRD. Coleção Rizzo.
- DELPRETE, P.G.; SMITH, L.B. & KLEIN, R.M. 2004. Flora Ilustrada Catarinense: Rubiaceae. Pp. 1-344. In: Reis, A. (ed.). Vol. I – Gêneros A – G: 1. Alseis até 19. Galium. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues.

- ECKERT, C.G.; BARRETT, S.C.H. 1994. Tristyly, self-compatibility and floral variation in *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 53: 1–30.
- ENDELS, P., JACQUEMYN, H., BRYNS, R. & HERMY, M. 2002. Changes in pin-thrum ratios in populations of the heterostyle *Primula vulgaris* Huds: does imbalance affect populations persistence? *Flora* 197: 326-331
- ERNST, A. 1955. Self-fertility in monomorphic *Primulas*. *Genetica*, 27: 391–448.
- FAIVRE, A.E.; MCDADE, L.A. 2001. Population-level variation in the expression of heterostyly in three species of Rubiaceae: does reciprocal placement of anthers and stigmas characterize heterostyly? *American Journal of Botany* 88:841-853.
- FERRERO, V., ARROYO, J., VARGAS, P., THOMPSON, J. D. & NAVARRO, L. 2009. Evolutionary transitions of style polymorphisms in *Lithodora* (Boraginaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 11:111–125.
- FILETO-DIAS, F. 2011. *Polinização de quatro espécies de rubiaceae ornitófilas na Serra de Maracaju*. 61f. Dissertação (Ecologia e conservação). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- GANDERS, F.R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-635.
- GRANT, V.; GRANT, K.A. 1965. *Flower pollination in the phlox family*. New York: Columbia University Press.
- HALLER, B. C.; DE VOS J.M.; KELLER, B.; HENDRY, A.P.; CONTI, E. 2014. A tale of two morphs: modeling pollen transfer, magic traits, and reproductive isolation in parapatry. *PLoS ONE* 9:e106512.
- HAMILTON, C. W. 1990. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55:65-75.
- HERNÁNDEZ, A.; ORNELAS, J.F. 2007. Development of distylous flowers and investment of biomass in male and female function in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Plant Biology* 9: 694–704.
- HERRERA, C.M.; CASTELLANOS, M.C.; MEDRANO, M. 2006. Geographical context of floral evolution: towards an improved research programme in floral diversification. *Ecology and evolution of flowers*: 278-294.

- JOHNSON, S.D. 2006. Pollinator-driven speciation in plants. In: HARDER, L.D. BARRETT, S.C.H. eds. Ecology and evolution of flowers. Oxford: Oxford University Press: 295–310.
- LAMBRECHT, S.C.; DAWSON, T.E. 2007. Correlated variation of floral and leaf traits along a moisture availability gradient. *Oecologia* 151:574–583.
- LAU, P.; BOSQUE, C. 2003. Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): an experimental test of the disassortative pollen flow hypothesis. *Oecologia* 135: 593–600.
- LEWIS, D.; JONES, D.A. 1992. The genetics of heterostyly. In: SCH Barrett, ed. Evolution and function of heterostyly. Berlin: Springer-Verlag: 129–150.
- LLOYD D.G.; WEBB C.J. 1992. The selection of heterostyly. In: Barrett S.C.H. (ed.). Evolution and function of heterostyly. Springer-Verlag. Berlin: 179-207.
- MABBERLEY, D.J. 1987. The plant-book. A portable dictionary of the higher plants. Cambridge University Press. Cambridge.
- MATHER K.; DE WINTON D. 1941. Adaptation and counter-adaptation of the breeding system in *Primula*. *Annals of Botany* 5:297–311
- MENDONÇA, L.B.; ANJOS, L. 2006. Flower morphology, nectar features, and hummingbird visitation to *Palicourea crocea* (Rubiaceae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 78: 45-57
- PAUW, A.; STOFBERG, J.; WATERMAN, R.J. 2009. Flies and flowers in Darwin's race. *Evolution* 63: 268–279.
- PEREIRA, Z.V.; VIEIRA, M.F.; CARVALHO-OKANO, R.M. 2006. Fenologia da floracao, morfologia floral sistema de incompatibilidade em espeies distilicas de Rubiaceae em fragmento florestal do Sudeste brasileiro. *Brazilian Journal of Botany* 29(3):471–480.
- PETER, C.I.; JOHNSON, S.D. 2014. A pollinator shift explains floral divergence in an orchid species complex in South Africa. *Annals of Botany* 113: 277–288.
- REE, R.H. 1997. Pollen flow, fecundity and the adaptive significance of heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica* 29:298-308
- RICHARDS, J.H.; KOPTUR, S. 1993. Floral variation and distily in *Guettarda scabra* L. (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80:31-43.

- RODRIGUES, E.B.; CONSOLARO, H. 2013. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull. Arg. (Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. *Acta Botanica Brasilica* 27: 155-161.
- SÁ, T.; FURTADO, M.T.; FERRERO, V.; PÉREZ-BARRALES, R.; RODRIGUES, E. B.; DOS SANTOS, I.G.; CONSOLARO, H. 2016. Floral biology, reciprocal herkogamy and breeding system in four *Psychotria* species (Rubiaceae) in Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 182(3): 689-707.
- SAKAI, S., TOQUENAGA, Y. 2004. Heterostyly: speciation within a species. *Pop. Ecol.* 46, 253–262.
- SÁNCHEZ, J.M.; FERRERO V.; NAVARRO, L. 2008. A new approach to the quantification of degree of reciprocity in distylous (sensu lato) plant populations. *Annals of Botany* 102: 463–472.
- SÁNCHEZ, L.M.; FERRERO, V.; NAVARRO, L. 2013. Quantifying reciprocity in distylous and tristylous plant populations. *Plant Biology* 15, 616-620.
- SANTOS, O.A.; WEBBER, A.C.; COSTA, F.R.C. 2008. Biologia reprodutiva de *Psychotria spectabilis* Steyrm. e *Palicourea* cf. *virens* (Poepp & Endl.) Standl. (Rubiaceae) em uma floresta tropical úmida na região de Manaus, AM, Brasil. *Acta Botanica Brasílica* 22: 275-285.
- SANTOS-GALLY, R.; PEREZ-BARRALES, R.; SIMÓN, V.I.; ARROYO, J. A. 2013. The role of short-tongued insects in floral variation across the range of a style-dimorphic plant. *Annals of Botany* 111: 317–328.
- SOBREVILA C, RAMIREZ N AND ENRECH NX. 1983. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* e *Palicourea petiolaris* (Rubiaceae), heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15: 161– 169.
- SOSENSKI, P.; FORNONI, J.; MOLINA-FREANER, F.E.; WELLER, S.G.; DOMINGUEZ, C.A. 2010. Changes in sexual organ reciprocity and phenotypic integration during the tristylous-distyly transition in *Oxalis alpina*. *New Phytologist* 185: 829–840.
- SOUZA, V. C., & LORENZI, H. (2005). *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Instituto Plantarum.

- STEBBINS, G.L. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 1:307– 326.
- THOMPSON, J. D., S. C. H. BARRETT, AND A. M. BAKER. 2003. Frequency-dependent variation in reproductive success in *Narcissus*: implications for the maintenance of stigma-height dimorphism. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological* 270:949-953.
- TOLEDO, R., CARVALHO, A., HASHIMOTO, D., & RODRIGUES, M. 2007. Caracterização Morfológica de Quatro Espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Biociências* 5(1): 732–734.
- VALOIS-CUESTA, H.; LOLEZ-PEREA, D.; QUINTO-VALOYES, Z. 2009. Reproductive ecology of *Psychotria poeppigiana* (Rubiaceae): a comparative analysis between long-styled and short-styled plants. *Ecotropicos* 22:1–12.
- VALOIS-CUESTA, H.; SORIANO, P.J.; ORNELAS, J.F. 2011. Asymmetrical legitimate pollination in distylous *Palicourea demissa* (Rubiaceae): the role of nectar production and pollinator visitation. *Journal of Tropical Ecology* 27: 393–404.
- VAN DER NIET.; T.; PIRIE, M. D.; SHUTTLEWORTH, A.; JOHNSON, S.D.; MIDGLEY, J.J. 2014. Do pollinator distributions underlie the evolution of pollination ecotypes in the Cape shrub *Erica plukenetii*? *Annals of botany* 113(2): 301-316.
- VAN DIJKW.1943. La découverte del herostylie chez *Primula* par Ch. de l'et Ecluse et P. Reneaulme. *Nedelandsch Kruidkundig Archief* 53:81–85.
- ZHOU, X.; JACOBS, T.B.; XUE, L.J.; HARDING, S.A.; TSAI, C.J. 2015. Exploiting SNPs for biallelic CRISPR mutations in the outcrossing woody perennial *Populus* reveals 4-coumarate: CoA ligase specificity and redundancy. *New Phytologist* 208: 298–301.

Manuscrito 1

4.0 POLIMORFISMO FLORAL ASSOCIADO A INACURÁCIA DAS FLORES EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Palicourea coriacea* (RUBIACEAE) NO CERRADO DO BRASIL

Manuscrito a ser enviado ao periódico Plant Biology

Polimorfismo floral associado à inacurácia das flores em populações naturais de *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae) no Cerrado do Brasil

Tulio Sá^{1*}; Rocío Pérez-Barrales²; Hélder Consolaro³; Cibele Castro de Castro¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Avenida Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil, 52171-900

² School of Biological Sciences, University of Portsmouth, Portsmouth PO1 2DY, UK

³ Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão, Av. Lamartine Pinto de Avelar, 1120, Setor Universitário, Catalão-GO 75704-020, Brasil

*Autor para correspondência: tulio_filgueira@hotmail.com

RESUMO

Polimorfismo floral associado à inacurácia das flores em populações naturais de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae) no Cerrado do Brasil. A distília é descrita como um polimorfismo floral caracterizado pela presença de hercogamia recíproca (HR) e de um sistema de incompatibilidade heteromórfico, apresentando flores com estilete alto e anteras baixas (longistilas-L), e flores com estilete baixo e anteras altas (brevistilas- B). A HR juntamente com os polinizadores é importante para que haja a transferência de pólen compatível. Com isso, a inacurácia é um dos métodos para avaliar a hercogamia recíproca, em que mede o contato dos estigmas com as anteras correspondentes. O objetivo do trabalho foi determinar o tipo de polimorfismo presente em *Palicourea coriacea* com base na análise da inacurácia e sua variação entre os órgãos sexuais altos e baixos e entre populações e comparar com os valores da inacurácia das flores do gênero, através de bases de dados. A coleta foi realizada em 12 populações de *P. coriacea* distribuídas em áreas de Cerrado na região Central do Brasil. Foram determinados os graus de reciprocidade de acordo com os valores da inacurácia e sua variação entre os morfos e populações; foi averiguado a inacurácia das flores das espécies de acordo com a extração de dados bibliográficos. Os cálculos de HR indicaram que *P. coriacea* pode ser considerada uma espécie distílica, apresentando um baixo grau de inacurácia nas populações. Além disso, a variação fenotípica em *P. coriacea* é consequência da extensa variação da maladaptação entre as populações. Acredita-se que essa variação contínua no tamanho dos órgãos reprodutivos tenha um efeito positivo, tornando as populações no geral com um alto grau de hercogamia recíproca. Essa variação fenotípica é comum no gênero e os valores da inacurácia de *P. coriacea* é similar comparado a outras espécies no grupo. Com isso, acredita-se que a atuação dos polinizadores esteja atuando na manutenção nos traços florais no gênero.

Palavras chave: Heterostilia, hercogamia recíproca, inacurácia

INTRODUÇÃO

A distília é uma estratégia reprodutiva presente em 28 famílias de angiospermas que favorece a polinização cruzada e minimiza as chances de autofecundação (Barrett & Shore 2008). É caracterizada pela presença de hercogamia recíproca (HR) a partir de flores com estilete alto e anteras baixas (longistilas-L) e flores com estilete baixo e anteras altas (brevistilas-B), e por um sistema de incompatibilidade heteromórfico (SIH) (Ganders 1979). A HR é considerada fundamental na promoção da polinização entre morfos e constitui um dos requisitos para a caracterização de espécies heterostílicas típicas (Faivre & McDade 2001). Apesar de algumas divergências (Sá *et al.* 2016; Faivre & McDade 2001; Sampson & Krebs 2012), vários estudos mostram que a presença de variações nos graus de HR podem promover o fluxo de pólen assimétrico, gerando alterações no sistema reprodutivo da população (Endels *et al.* 2002; Lau & Bosque 2003; Zhou *et al.* 2015).

Mudanças no sistema distílico podem resultar no surgimento de populações atípicas como, por exemplo, com apenas um morfo, denominadas monomórficas (Zhou *et al.* 2012) e populações homostílicas (Consolaro *et al.* 2009). A homostilia é caracterizada pela presença de flores que possuem anteras e estigma na mesma altura, de modo que tal redução da separação espacial entre os órgãos reprodutivos aumentam as chances de autopolinização (Consolaro *et al.* 2009). Dessa forma, a presença de um morfo na população (monomorfismo ou homostilia) a compatibilidade torna uma condição obrigatória para que ocorra a reprodução sexual, além da elevada taxa de crescimento clonal comum a essa condição morfológica (Sobrevila *et al.*, 1983; Hamilton 1990).

A família Rubiaceae possui várias espécies distílicas atípicas, talvez por ser o grupo botânico que possui o maior número de representantes distílicos (Barrett & Richards 1990), podendo essas variações ocorrerem em diferentes graus, tanto entre populações da mesma espécie, separadas por barreiras geográficas ou ecológicas, quanto entre espécies e gêneros (Li & Johnston 2001). A homostilia é uma variação recorrente no gênero *Palicourea*, tendo registros em populações de *P. macrobotrys* no Triângulo Mineiro, Distrito Federal e Sul de Goiás do Brasil (Coelho & Barbosa 2003; Consolaro *et al.* 2009), em *P. alpina* na Jamaica (Tanner 1982) e uma população de *P. cf. virens* na Amazônia, Brasil (Santos *et al.* 2008). Um estudo realizado com uma população de *P. coriacea* no Cerrado do Distrito Federal encontrou a presença do morfo homostilo, conjuntamente, com o longistilo e brevistilo (Consolaro *et al.* 2009), contudo o registro de apenas uma população não permitiu saber quão frequente são essas

variações e sua amplitude geográfica, e também que se infira o status evolutivo que tal variação representa.

Em um contexto geográfico, espécies com larga distribuição estão sujeitas a apresentarem maiores alterações nos traços florais e na evolução do sistema sexual, devido a pressões seletivas representadas por condições do ambiente, história de vida das populações e atuação dos polinizadores (Weller *et al.* 2007; Hodgins & Barrett 2008). Estudos que investigam tais variações foram desenvolvidos com Primulaceae (Hodgins & Barrett 2008), Lythraceae (Costa *et al.* 2015) e Boraginaceae (Ferrero *et al.* 2009), não sendo comum na família Rubiaceae, mesmo sendo considerado um grupo modelo para estudos com variação na expressão morfológica por ser a maior família com representantes distílicos (Pailler & Thompson 1997; Zhou *et al.* 2015).

A caracterização da distília típica e de suas derivações pode ser realizada por meio de cálculos relacionados à HR (Ferrero 2014). Os graus de HR podem ser inferidos por meio do cálculo de inacurácia das flores, avaliada a partir de modelos matemáticos que testam a reciprocidade baseados no conceito de imprecisão adaptativa (Armbruster *et al.* 2017). A inacurácia mede a correspondência dos órgãos altos (antera do morfo brevistilo com altura do estigma do morfo longistilo) e baixos (antera do morfo longistilo com a altura do estigma do morfo brevistilo), calculando o grau de imprecisão de cada elemento explicado pela média e variância da altura da antera e estigma (Armbruster *et al.* 2017). Essa correspondência dos órgãos sexuais masculinos e femininos (HR) representa a localização no corpo dos polinizadores onde o pólen é retirado das anteras e depositado nos estigmas entre morfos (Barrett 2002; Keller *et al.* 2014). Quanto maior a correspondência da posição antera-estigma dos morfos opostos, maior será a probabilidade de transferência intermorfo de pólen, conceituado como o ótimo da flor (Haller *et al.* 2014; Armbruster *et al.* 2017). Os cálculos da inacurácia ou imprecisão adaptativa entre os órgãos recíprocos tem uma abordagem biológica e estabelece uma escala numérica, relacionando conceitos de morfologia funcional, ecologia e desenvolvimento evolutivo das flores (Armbruster *et al.* 2009). Sendo assim, a variação geográfica em parâmetros morfológicos (ex. relação do comprimento do tubo floral com o comprimento da probóscide do polinizador) pode mostrar claramente variações da imprecisão do ótimo floral, refletindo as diferenças resultantes das variações geográficas (Johnson & Steiner 1997; Anderson & Johnson 2008).

A caracterização morfométrica dos morfos florais (incluindo nível de HR) em diferentes populações de espécies distílicas atípicas é fundamental para a compreensão dos processos evolutivos que originaram tais espécies em famílias e gêneros considerados tipicamente

distílicos. Devido às espécies e populações distílicas demonstrarem uma extensa variação, é essencial uma estimativa quantitativamente detalhada através da análise de inacurácia adaptativa, uma vez que tal análise mede o desvio do ótimo ou a inadaptação do morfo em uma escala de adaptação (Armbruster *et al.* 2017).

Palicourea coriacea é uma espécie comum do Cerrado com distribuição desde o Nordeste até os estados de São Paulo e Paraná e Leste da Bolívia. Possui o hábito subarborescente e até 1,2 m de altura, com floração anual no início da estação chuvosa. Suas inflorescências corimbosas são amarelas com uma densa aglomeração de brácteas eretas preenchendo todo o seu interior (Delprete 2010). As flores hermafroditas apresentam corola tubular com cinco estames epipétalos, um pistilo, são nectaríferas e comumente polinizadas por abelhas e beija-flores (Consolaro *et al.* 2009). Estudo recente tem encontrado variação na manifestação da distília em uma população de *P. coriacea* do Distrito Federal no Brasil, sendo observada a presença de três morfos florais (brevistilo, longistilo e homostilo) e de autocompatibilidade. *Palicourea* é um gênero que apresenta grande variação no polimorfismo floral, além de ser um grupo botânico adequado para quantificar a variação na altura dos órgãos reprodutivos por meio da inacurácia das flores (Santos *et al.* 2008; Consolaro *et al.* 2009; Costa & Machado 2017). No presente estudo, buscou-se esclarecer o tipo de polimorfismo presente em *Palicourea coriacea*, determinando o perfil morfométrico dos tipos florais com base na análise da inacurácia e sua variação entre os órgãos sexuais altos e baixos e entre populações. Além disso, base de dados foram extraídos de estudos com morfologia floral do gênero a fim de avaliar a inacurácia das flores no gênero *Palicourea*, a condição polimórfica no gênero e por fim comparar com os valores da inacurácia das flores com *P. coriacea*.

MATERIAL E MÉTODOS

Áreas de estudo

O estudo foi desenvolvido em doze populações de *P. coriacea* distribuídas no Cerrado do Brasil Central, especificamente no Distrito Federal e nos estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Material suplementar: Tabela S1). As áreas foram estabelecidas tendo como parâmetro a ocorrência da espécie e o período de floração, a partir de dados obtidos por meio de consulta bibliográfica, herbários e informação pessoal.

Caracterização dos morfos florais

As medições foram realizadas em flores abertas (N=100 por população) preservadas em álcool 70% por meio de imagens digitais analisadas pelo software ImageJ 5.0 (Soft Imaging System GmbH, Munster, Germany). Em laboratório, foram medidos os seguintes caracteres

florais: altura do pistilo, altura do estame, comprimento do estigma e da antera. A identificação dos morfos foi feita em laboratório por meio de dados morfométricos. Após a medida, a flor foi considerada longistila quando a altura do pistilo excedia ou se aproximava a altura da antera, considerada brevistila quando a altura da antera excedia ou se aproximava da altura do pistilo dentro da flor e caracterizada como homostila quando os valores da altura do pistilo e da antera não eram diferentes dentro da flor (Figura 1).

A altura do pistilo foi calculada pela soma na altura do estilete mais a metade do comprimento do estigma. A altura dos estames foi medida pela altura completa do estame menos a metade da antera. Esse cálculo foi necessário para não superestimar a altura dos órgãos reprodutivos altos (antera brevistila e estigma longistilo) e baixos (antera longistila e estigma brevistilo), visto que o lobo estigmático é bífido e a liberação do pólen ocorre na metade das anteras em meio natural. A determinação do morfo brevistilo foi baseada em trabalhos com *Palicourea* que consideram um gradiente de variação tanto da antera quanto do estigma do morfo brevistilo comum ao gênero (Sobrevila 1983; Contreras & Ornelas 1999; Lau & Bosque 2003).

Para melhor compreensão dos dados morfológicos, foram criados gráficos com os comprimentos das anteras e estigmas de cada flor dentro de cada população. Para isso, a altura do pistilo foi apresentada em ordem crescente junto com a respectiva altura do estame (Ferrero *et al.* 2009). Após a análise dos morfos em laboratório juntamente com a análise gráfica da distribuição dos dados, as análises da inacurácia foram realizadas de acordo com caracterização prévia em laboratório.

Análise de inacurácia para flores dimórficas

A imprecisão da altura dos órgãos baixos (Estigma do morfo brevistilo e estame do morfo longistilo) e altos (Estame do morfo brevistilo e estigma do morfo longistilo) foi calculada de acordo com a análise de inacurácia de espécies dimórficas para todas as populações de *Palicourea* (Armbruster *et al.* 2017), conforme segue:

$$\text{Inacurácia}_{\text{Órgão baixo}} = (\bar{A} - \bar{E})^2 + V_A + V_E$$

$$\text{Inacurácia}_{\text{Órgão alto}} = (\bar{a} - \bar{e})^2 + V_a + V_e$$

Onde A é a média da população das anteras dos estames altos, E é altura média dos estigmas altos, a é a altura média das anteras dos estames baixo e e é a altura média dos estigmas curtos (Figura 1). V_A e V_a é a variância da altura da antera do órgão baixo e alto respectivamente e V_E

e V_e a variância da altura do estigma do órgão baixo e alto. Quanto mais próximo de 0, menor será a inacurácia, sendo 0 a reciprocidade perfeita (Armbruster *et al.* 2017).

O índice de inacurácia mede o efeito do desvio da média ótima e da variância dos órgãos sexuais na mesma escala. Para o cálculo da inacurácia é necessário estandardizar os dados para que seja possível avaliar os efeitos relativos de cada órgão. A estandardização da média e da variância foi realizada criando uma escala proporcional (por exemplo, dividindo o índice com a média geral) entre os órgãos altos e baixos para que seja possível comparar a inacurácia avaliando a aptidão dos órgãos (baixo e alto). Tal padronização precisa ser aplicada nas análises, uma vez que implica um pressuposto biológico apropriado para comparações interpopulacionais (Armbruster *et al.* 2017). Foi também calculada a Maladaptação (desvio médio do ótimo) e a imprecisão (variância dentro da população) de cada população em *P. coriacea*, também apresentados em porcentagem.

A “maladaptação” é um termo criado para inferir o grau de desvio dos órgãos sexuais correspondentes recíprocos a partir do ótimo da população. Quanto mais distante no desvio do ótimo maior será a maladaptação (Armbruster *et al.* 2017), conforme segue:

$$\text{Maladaptação}_{\text{Órgão baixo}} = (\bar{A} - \bar{E})^2 * \text{Inacurácia (\%)}_{\text{elemento baixo}} / S$$

$$\text{Maladaptação}_{\text{Órgão alto}} = (\bar{a} - \bar{e})^2 * \text{Inacurácia (\%)}_{\text{elemento alto}} / S$$

A é a média altura da população das anteras dos estames altos, E é altura média dos estigmas altos, a é a altura média das anteras dos estames baixo e s é a altura média dos estigmas curtos. Inacurácia (%) é o valor da inacurácia proposto na equação anterior dado em uma escala percentual. S é a soma das inacurácia dos elementos alto e baixo.

A variância da antera e do estigma avalia a imprecisão em uma escala proporcional e em nível populacional mensurada pela variação do posicionamento das anteras e estigmas das flores de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Variância}_{\text{órgão alto}} = I_{oa}(\%) * V_{oa} / S$$

$$\text{Variância}_{\text{órgão baixo}} = I_{ob}(\%) * V_{ob} / S$$

I_{oa} é a inacurácia do órgão alto em uma escala proporcional, I_{ob} é a inacurácia do órgão baixo em uma escala proporcional, V_{oa} é a variância do estame do órgão alto, V_{ob} é a variância do estame do elemento baixo e S é a soma da inacurácia dos órgãos altos e baixos.

Dados de revisão bibliográfica

Foi realizada uma revisão de trabalhos publicados com medidas morfológicas florais das espécies do gênero *Palicourea*, usando as bases de dados Web of Science, SCOPUS e Scielo, sem restrição de data. As palavras-chave foram: morfologia, distília, *Palicourea* e Rubiaceae. Além disso, completamos as informações usando bancos de dissertações e teses. Foram utilizados a média e o desvio ou erro padrão de acordo com cada método estatístico adotado. Os últimos, por sua vez, foram transformados em variância e juntamente com a média, foram calculados o valor da inacurácia de cada espécie.

Os valores da variância de cada órgão foram extraídos a partir do desvio (1) ou erro (2) padrão de acordo com a medida adotada em cada trabalho a partir das seguintes fórmulas:

$$1) V = d^2 / \quad 2) V = (e \times \sqrt{N})^2$$

V=Variância, d= desvio padrão, e= erro padrão e N= n° amostral.

Avaliação da distância geográfica com os valores da inacurácia

Foi realizado um teste de mantel para determinar a associação entre a distância geográfica e a inacurácia estandardizada das populações a partir da criação de matrizes de distância de dissimilaridade com 999 permutações. Foi utilizado o pacote Vegan no R 2.15.2 statistical software para realização das análises (R Development Core Team, 2012).

RESULTADOS

De acordo com a análise de laboratório e a avaliação gráfica da altura dos órgãos, foi constatado que *Palicourea coriacea* apresenta majoritariamente distília como polimorfismo, porém raros indivíduos foram indentificados com flores homostila. Dentre as doze populações, seis apresentam indivíduos com flor homostila, variando de no mínimo uma a no máximo quatro flores nessas áreas (Figura 2).

Estimativas da inacurácia dos traços florais para cada população de *Palicourea coriacea* são apresentadas na tabela 01. *Palicourea coriacea* apresentou uma média total da inacurácia estandardizada de 1,4% variando de 0,5% na população Tangará da Serra a 2,4% na população trilha do Tatu. A inacurácia proporcional entre os órgãos altos e baixos foi bastante similar com uma média de 54% e 46% respectivamente. Entretanto, seis populações apresentaram valores superiores a 60%, sendo quatro populações nos órgãos altos e duas nos órgãos baixos (Tabela 01; Figura 3).

A média da maladaptação para espécie nos órgãos altos e baixos foi relativamente próximo com cerca de 10,3% e 8,2% respectivamente. No entanto, os valores nas populações oscilaram bastante, apresentando um mínimo de 0,6% a um máximo de 38,5% nos órgãos altos e de 1,8% a 31,3% nos órgãos baixos. A média da variância das anteras dos órgãos altos e baixos foram mais próximas comparada aos valores da variância do estigma entre os morfos, com cerca de 7,5% nos órgãos altos e 8,7% nos órgãos baixos. Em contrapartida, a variância do estigma foi mais distante comparada com a variância da antera com o mínimo de 5,2% nos órgãos baixos e 12,1% nos órgãos altos.

O teste de Mantel envolvendo todas as populações *P. coriacea* revelou uma significativa relação entre a inacurácia das populações e a distância geográfica entre ela ($r=0,61$ e $P=0,03$). O teste revelou que populações espacialmente mais próximas apresenta um valor na inacurácia estandardizada mais similar, em contrapartida populações com uma maior distância geográfica expressam uma maior diferença na inacurácia estandardizada, mesmo com uma baixa amplitude nos valores da inacurácia estandardizada.

Comparando a inacurácia estandardizada de *P. coriacea* com outras espécies do gênero, é constatado um valor mediano com cerca de 1,4%, uma vez que, nas espécies de *Palicourea* em geral, a média da inacurácia estandardizada foi superior a 0,4% e inferior a 2,7% (Tabela 02). Nas espécies de *Palicourea*, essa variação pode ser maior dentro das populações como exemplo *Palicourea padifolia* em que a inacurácia estandardizada apresentando valores de 1,3% a 4,0% (Tabela S2).

Considerando que a inacurácia proporcional entre os órgãos é dado pela soma da inacurácia total, os valores encontrados entre os órgãos alto e baixo são mais equilibrados (próximo a 50% para cada órgão) em *P. coriacea*, *P. rígida*, *P. padifolia* e *P. tetragona* comparado com o restante das espécies do gênero (Tabela 02). Os valores da maladaptação oscilaram bastante entre as espécies de *Palicourea*. Em contrapartida, os valores da maladaptação entre os órgãos em *P. coriacea* foram mais próximos do que nas outras espécies do mesmo gênero (Tabela 02). Os valores da variância entre anteras e estigmas no gênero não apresentou valores similares, no entanto, parte das espécies apresenta uma maior variância no estigma do órgão alto do que no órgão baixo (Tabela 02).

DISCUSSÃO

Os cálculos de HR indicam que *P. coriacea* pode ser considerada uma espécie distílica, apresentando relativamente um baixo grau de inacurácia nas populações. Isto pode ser explicado porque a presença de HR é um dos parâmetros para a caracterização da distílica

(Ganders 1979). Em trabalhos previamente publicados, espécies de *Palicourea* são consideradas como distílicas, mesmo apresentando uma inacurácia estandardizada superior a encontrada em *P. coriacea*. Além disso, a inacurácia estandardizada em *P. coriacea* foi menor (1,4%) comparada com as espécies da família Primulaceae, com inacurácia superior a 3,4% considerada pelos autores como uma espécie distílica (Armbruster *et al.* 2017). Ainda não se tem a certeza de que, o fato de *P. coriacea* registrar poucas flores com homostilia e apresentar uma extensa variação nas anteras e estigmas, possa representar um caminho evolutivo frequentemente registrado no gênero como a homostilia integral (*P. alpina*; Tanner 1982 e *P. macrobotrys*; Coelho & Barbosa 2003; Consolaro *et al.* 2009). É possível que cada espécie ou população responda de forma diferente perante as mesmas pressões seletivas a que estão submetidas (Charlesworth & Charlesworth, 1979; Li & Johnston, 2001). Dessa forma não se pode descartar que *P. coriacea*, assim como outras espécies do mesmo gênero, esteja sofrendo pressões seletivas nas populações uma vez que, em geral, as espécies e populações apresentam diferentes graus na inacurácia estandardizada, além dos registros de distilia atípica no gênero (Coelho & Barbosa 2003; Costa & Machado 2017).

A natureza adaptativa das espécies heterostílicas pode ser interpretada com a análise da inacurácia devido a conexão quantitativa entre cálculos matemáticos e justificativas biológicas nos grupos polimórficos (Armbruster *et al.* 2017). Com isso, a evidência do dimorfismo em *P. coriacea* é mais clara com a avaliação na inacurácia das outras espécies que confirmam a similaridade da inacurácia estandardizada, estando *P. coriacea* dentro dos limites das outras espécies do gênero. O presente trabalho adotou a análise da inacurácia pelo fato do índice considerar o grau de inadaptação dos órgãos em uma escala de aptidão reprodutiva explicada pela média e variância do fenótipo de cada estrutura reprodutiva (Armbruster *et al.* 2017). A eficiência da HR depende do grau de variação entre anteras e estigmas correspondentes (Arroyo & Barrett 2000). Dessa forma, não se pode considerar o grau de HR apenas pelo ponto médio das anteras e estigmas da flor, como proposto por outros índices (Richards & Koptur 1993; Sanchez *et al.* 2008; 2013). A avaliação no grau de HR já é bem discutida em vários trabalhos, no entanto, considerar uma espécie distílica de acordo com a exatidão na HR parece não ser a abordagem mais correta, uma vez que é possível manter o fluxo de pólen nas espécies distílicas mesmo sem tal exatidão (Favre & Mcdade 2001; Castro & Araújo 2004; Teixeira & Machado 2004).

Palicourea padifolia apresentou o maior índice de inacurácia dentre as espécies analisadas e, no entanto, foi considerada uma espécie distílica (Hernandez & Ornelas 2007). De acordo com os últimos autores, a presença da HR não foi o principal caractere para promover a

polinização legítima em *P. padifolia*, e sim as possíveis pressões seletivas presentes nas populações (Nishihiro *et al.* 2000; Hernandez & Ornelas 2007). Em contrapartida, não se pode descartar a importância da HR, visto que é um caractere essencial para promover a polinização cruzada (Darwin 1877; Barrett & Shore 2008; Keller *et al.* 2014). Em *P. lasiorrachis*, o fato da espécie apresentar uma inacurácia proporcional de 72,7% e 27,3% nos órgãos altos e baixos, respectivamente, confirma a importância da HR na espécie, visto que os órgãos baixos foram mais eficientes na transferência de pólen legítimo comparado aos órgãos altos (Tabela 02; Feinsinger & Busy 1987).

No gênero *Palicourea*, a grande variação na maladaptação é reflexo do valor da inacurácia e pode interferir na transferência de pólen (Armbruster *et al.* 2017). A variação fenotípica em *P. coriacea* é consequência da extensa variação da maladaptação entre as populações. Dados prévios indicam que na população desta espécie na Reserva do IBGE, os órgãos baixos foram mais eficientes comparados aos órgãos altos, dessa maneira, a deficiência é mais visível nos valores da maladaptação, a saída da faixa ótima entre a altura dos órgãos intermorfos (Tabela 1; dados não publicados).

O fato de *P. coriacea* apresentar a inacurácia proporcional próxima dos 50% entre as populações e em cada tipo de órgão (alto ou baixo) indica que o aumento no grau da inacurácia parece elevar de forma paralela entre os órgãos altos e baixos, diferente nas outras espécies. Portanto, é especulativo pensar que os valores da inacurácia proporcional juntamente com a maladaptação nos órgãos reprodutivos entre espécies e populações estejam relacionados a um processo de seleção fenotípica (Armbruster *et al.* 2017). Não se pode descartar a importância da HR nas espécies de *Palicourea*, em especial, *P. coriacea* que, mesmo com a variação intrafloral contínua dos dados, mantém a reciprocidade nos órgãos altos e baixos nas populações devido à possível plasticidade fenotípica presente nas mesmas (Endler 1986).

Diferenças da variância do estigma e antera, assim como maladaptação, podem resultar na variação fenotípica dos órgãos reprodutivos das espécies e, conseqüentemente, na reciprocidade das espécies heterostílicas (Armbruster *et al.* 2017). Partindo do pressuposto de que a reciprocidade está relacionada diretamente com o fluxo de pólen (Ferrero *et al.* 2011), o baixo grau de inacurácia no gênero pode ser resultado de uma pressão de seleção que maximize ou garanta a reprodução nas espécies (de Vos *et al.* 2012). De fato, cada espécie ou população pode responder de forma diferente às mesmas pressões seletivas (Charlesworth & Charlesworth 1979; Li & Johnston 2001).

Extensas discussões são realizadas a respeito das possíveis pressões seletivas que resultam no desvio do ótimo da flor. Tais causas são atribuídas às variações genéticas e fatores

seletivos naturais que contribuem para rápidas mudanças nos aspectos morfológicos das espécies (Hansen *et al.* 2006; Armbruster *et al.* 2009). É possível que as divergências nos valores da inacurácia das populações no gênero possam estar aliadas a diferentes tempos evolutivos, e que o isolamento maior esteja relacionado a possíveis mudanças nas expressões morfológicas, uma vez que espécies heterostílicas apresentam expressões genéticas que compõem o supergene reponsável pelo controle das expressões fisiológicas e morfológicas na distilia (Lewis & Jones 1992; Barrett & Shore 2008). Em adição, cabe ressaltar que além dessas variações morfométricas e do caráter atípico da distilia, a heterostilia está presente em 28 famílias, dentre as quais a distilia surgiu em diferentes escalas evolutivas (Barrett & Shore 2008).

Barbosa *et al.* (2010), avaliando a diversidade genética nas populações de *P. coriacea* no Estado de Goiás no Brasil, constataram uma alta variabilidade genética nas populações, não havendo uma correlação entre distâncias genéticas e geográficas. Diante da herança genética presente nas espécies heterostílicas, aliada aos registros de variabilidade genética, é possível que populações de *P. coriacea* necessitem de um menor tempo evolutivo para tais divergências do que na espécie. Além disso, em um contexto macro evolutivo, as espécies podem apresentar fatores filogenéticos mais amplos e um maior isolamento comparado às populações (Gould 2002). É consistente pensar que as respostas evolutivas para tais mudanças não ocorram de forma conjunta entre fatores genéticos e processos seletivos naturais (Schluter 1996, 2000; Hansen & Houle 2008).

É importante mencionar que *Palicourea* é um gênero que compõe o subgênero *Heteropsychotria* (Taylor 1997), grupo com posicionamento indefinido e parafilético agrupado às espécies de *Psychotria*, compondo a Aliança *Psychotrieae* (Nepokroeff *et al.* 1999; Bremer & Eriksson 2009). Além disso, dentre os estudos com espécies heterostílicas na família Rubiaceae, *Palicourea* é o gênero que possui registros de monomorfismo e homostilia (Consolaro *et al.* 2011; Costa & Machado 2017). É possível que a grande variação intrafloral nas espécies do gênero *Palicourea*, seja um caminho para distilia atípica, como monomorfismo, homostilia e dimorfismo (Ferrero *et al.* 2009). Sendo assim, caso a homostilia seja um caminho evolutivo mais frequente no gênero, é comum que essas variações ocorram como parte do processo evolutivo nas mudanças morfológicas, como encontrado em *P. alpina* (Tanner 1982) e *P. macrobotrys* com homostilia integral (Coelho & Barbosa 2003; Consolaro *et al.* 2009).

Em *P. coriacea*, a associação entre a diferença nos graus da inacurácia populacional e a distância espacial pode ser envolvida por vários processos evolutivos; um processo aleatório que pode estar aliado à deriva genética resultando em uma variação interpopulacional e

processos não aleatórios como a mudança fenotípica ligada a fatores bióticos e/ou abióticos (Cosacov *et al.* 2014). Apesar de não se ter informações de quais processos evolutivos que causam essa extensa variação fenotípica nos órgãos sexuais em *P. coriacea* em um gradiente geográfico, sabe-se que a espécie em estudo mantém o grau de hercogamia recíproca e com uma alta probabilidade de manter o fluxo de pólen intermorfo.

Nos últimos anos, estudos têm considerado os polinizadores como importantes agentes que influenciam na manutenção ou perda do polimorfismo floral, bem como em mudanças morfológicas e reprodutivas, uma vez que o papel dos polinizadores é garantir o sucesso reprodutivo nas plantas (Pérez-Barrales & Arroyo 2010; Santos-Gally *et al.* 2013a). Em *Narcissus* (Amaryllidaceae) as diferenças na morfologia floral e no polimorfismo estilar estão diretamente relacionadas com a fauna de polinizadores locais (Perez *et al.* 2004), apoiando a teoria de Lloyd e Webb (1992) que considera a eficiência dos polinizadores como um dos componentes para seu modelo quantitativo.

Dentro do gênero *Palicourea*, os beija-flores são considerados os principais polinizadores (Fileto-dias 2011; Coelho & Barbosa 2003; Mendonça & Anjos 2006; Santos *et al.* 2008; Machado *et al.* 2010), no entanto, *P. coriacea* é também polinizada por abelhas em uma das áreas do presente estudo (Consolaro *et al.* 2009). Ainda não se sabe se todas as populações de *P. coriacea* possuem o mesmo tipo de polinizador, e baseado no pressuposto de que as mudanças nos traços florais podem estar correlacionadas com a biologia da polinização de populações, a fauna de polinizadores pode estar atuando na manutenção do polimorfismo de forma diferente nas doze populações (Kissling & Barret, 2013).

Palicourea rigida, apesar de ser uma das espécies com menor índice de inacurácia (0,5%), foi visitada tanto por abelhas quanto por beija-flores, sendo os últimos mais frequentes (Machado *et al.* 2010). Outras espécies do mesmo gênero também foram polinizadas por beija-flores, demonstrando a importância desses agentes no grupo. Porém, assim como *P. coriacea* (inacurácia: 1,4%), outras espécies de *Palicourea* também registraram a visitação de abelhas (Sobrevila *et al.* 1983; Coelho & Barbosa 2003; Consolaro *et al.* 2009; Machado *et al.* 2010; Valois-Cuesta *et al.* 2011). Sabendo que as diferenças no desvio do ótimo (melhor posicionamento dos órgãos recíprocos) podem ter relação com a proximidade espacial das populações em *P. coriacea*, o presente trabalho sugere que as diferenças nos graus de inacurácia também podem estar aliadas à guilda de polinizadores local de cada área (Herrera *et al.* 2006; Perez-Barrales *et al.* 2007).

De acordo com os registros dos diferentes sistemas de polinização em *Palicourea* e os valores da inacurácia apresentadas no gênero, são necessários estudos que testem a eficiência

dos polinizadores nas diferentes populações de *P. coriacea* a fim de avaliar o papel desses agentes na variação do polimorfismo floral encontrado para a espécie. O presente estudo demonstra ainda que Rubiaceae é uma família que apresenta excelentes oportunidades de estudo, pelo fato de ser considerada um dos maiores grupos com registros de espécies heterostílicas, e especificamente *Palicourea*, que apresenta desde espécies distílicas até polimorfismos atípicos. *Palicourea coriacea* é uma espécie distílica, mesmo com a variação intrafloral, sendo comum a presença de fortes variações entre espécies e entre populações no gênero. Acredita-se que essa variação contínua no tamanho dos órgãos reprodutivos tenha um efeito positivo, tornando as populações, no geral, com um alto grau de HR. A nível de gênero, espécies de *Palicourea* demonstram que essa variação nos graus da inacurácia parece ser comum no grupo, resultando em uma faixa de variação similar entre as espécies e dentro de populações num gradiente geográfico que vai do Brasil ao México. Ademais, caracterizar o tipo de polimorfismo floral é essencial para realização de futuros estudos funcionais e evolutivos nesse grupo de plantas.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa cedida ao primeiro autor; ao CNPq pelo auxílio cedido a H. N. Consolaro; a University of Portsmouth pelo apoio logístico, ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo apoio logístico e financeiro; ao professor Ênio Dantas e o integrantes do laboratório da Universidade Estadual da Paraíba pelo apoio logístico, aos integrantes do Laboratório de Biologia Reprodutiva da Universidade Federal de Goiás-Campus de Catalão pela ajuda nas coletas de campo; à Universidade Federal de Uberlândia pelo apoio logístico e a P. E Oliveira pelas sugestões, a pesquisadora Milena Nunes pelo auxílio na confecção do mapa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson B., Johnson S.D. (2008). The geographical mosaic of coevolution in a plant pollinator mutualism. *Evolution*. **62**, 220–225.
- Armbruster W.S., Hansen T.F., Pélabon C., Pérez-Barrales R., Maad J. (2009). The adaptive accuracy of flowers: measurement and microevolutionary patterns. *Annals of Botany*, **103**(9), 1529-1545.
- Armbruster W.S. Bolstad G.H. Hansen T.F. Keller B. Conti E. Pélabon C. (2017).

- The measure and mismeasure of reciprocity in heterostylous flowers. *New Phytologist*.
- Arroyo J., Barrett S.C.H. (2000). Discovery of distyly in *Narcissus* (Amaryllidaceae). *American journal of botany*, **87**(5), 748–751.
- Barbosa T.C.S., Sibov S.T., Telles M.P.C., Soares T.N. (2010). Genetic characterization of natural populations of the medicinal plant *Palicourea coriacea* (Rubiaceae) with molecular markers *Genetics and Molecular Research*, **9**(2), 695- 704.
- Barrett S.C.H., Richards J.H. (1990). Heterostyly in tropical plants. In: Prance G, Gottsberger G, eds. Reproductive systems and speciation in tropical woody plants. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, **55**, 35–61.
- Barrett S.C.H. (2002). The evolution of plant sexual diversity. *Nature Genetics*, **2**, 274–284.
- Barrett S.C.H., Shore J.S. (2008). New insights on heterostyly: comparative biology, ecology and genetics. In: Franklin-Tong VE, ed. Self-incompatibility in flowering plants: evolution, diversity, and mechanisms. Berlin, *Springer-Verlag*, 3–32.
- Bremer B., Eriksson T. (2009). Timetree of Rubiaceae - Phylogeny and dating the family, subfamilies and tribes. *International Journal of Plant Sciences*, **170**, 766–793.
- Castro C.C., Araujo A.C. (2004). Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. *Plant Systematics and Evolution* **244**, 131–139.
- Charlesworth D., Charlesworth B. (1979). A model for the evolution of distyly. *American Naturalist*. **114**, 467–498.
- Coelho C.P., Barbosa A.A.A. (2003). Biologia reprodutiva de *Palicourea macrobotrys* Ruiz & Pavon (Rubiaceae): um possível caso de homostilia no gênero *Palicourea* Aubl. *Revista Brasileira de Botânica*, **26**, 403-413.
- Consolaro H., Toledo R.D.P., Ferreguti R.L., Hay J., Oliveira P.E. (2009). Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Botânica*, **32**, 677–689.
- Consolaro H., Silva S.C.S., Oliveira P.E. (2011). Breakdown of distyly and pin monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Plant Species Biology*, **26**, 24–32.

- Costa J., Castro S., Loureiro J., Barrett S. C. (2015). Variation in style morph frequencies in tristylous *Lythrum salicaria* in the Iberian Peninsula: the role of geographical and demographic factors. *Annals of botany*, **117**(2), 331-340.
- Contreras, P. S., Ornelas, J.F. (1999). Reproductive conflicts of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae), a distylous shrub of a tropical cloud forest
- Cosacov, A., Cocucci, A.A., Sersic A.N. (2014). Geographical differentiation in floral traits across the distribution range of the Patagonian oil-secreting *Calceolaria polyrhiza*: do pollinators matter? *Annals of Botany* 113: 251–266
- Costa A.C.G., Machado I.C. (2017). Pin-monomorphism in *Palicourea croce* (SW.) Roem. & Schult.(Rubiaceae): reproductive traits and role of floral visitors. *Brazilian Journal of Botany*, 1-8.
- Darwin C. (1877): The different forms of flowers on plants of the same species. London, Murray.
- De Vos J.M., Keller B., Isham S.T., Kelso S., Conti E. (2012). Reproductive implications of herkogamy in homostylous primroses: variation during anthesis and reproductive assurance in alpine environments. *Functional Ecology*, **26**, 854–865.
- Delprete P.G. (2010). Flora dos Estados de Goiás e Tocantins: Rubiaceae/ Piero Giuseppe Delprete: Coordenador José Ângelo Rizzo – Goiânia: PRPPG/UFG e IRD. Coleção Rizzo.
- Endels P., Jacquemyn H., Brys R., Hermy M., de Blust G. (2002). Temporal changes (1986–1999) in populations of primrose (*Primula vulgaris* Huds.) in an agricultural landscape and implications for conservation. *Biological Conservation*, **105**, 11–25.
- Endler J.A. (1986). Natural selection in the wild. Princeton, NJ, USA: Princeton University Press.
- Faivre, A.E., Mcdade L.A. (2001). Population-level variation in the expression of heterostyly in three species of Rubiaceae: does reciprocal placement of anther and stigmas characterize heterostyly? *American Journal of Botany*, **88**,841-853.
- Feinsinger P., Busby W.H. (1987). Pollen carryover: experimental comparisons between morphs of *Palicourea lasiorrachis* (Rubiaceae), a distylous, Bird-pollinated, tropical treelet. *Oecologia*, **73**(2), 231-235.

- Ferrero V., Arroyo J., Vargas P., Thompson, J.D. Navarro L. (2009). Evolutionary transitions of style polymorphisms in *Lithodora* (Boraginaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **11**, 111–125.
- Ferrero V., Castro S., Sanchez J.M., Navarro L. (2011) Stigma–anther reciprocity, pollinators, and pollen transfer efficiency in populations of heterostylous species of *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **291**, 267–276.
- Ferrero V. (2014). Heterostilia, ¿ qué sabemos hasta el momento?. *Revista Ecosistemas*, **23**(3), 23-30.
- Fileto-Dias F. (2011). *Polinização de quatro espécies de rubiaceae ornitófilas na Serra de Maracaju*. 61f. Dissertação (Ecologia e conservação). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- Ganders, F.R. (1979). The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany*, **17**, 607- 635.
- Gould, S.J. (2002). *The structure of evolutionary theory*. Cambridge, MA: Belknap Press. Goulson.
- Hamilton C.W. (1990). Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden*, **55**, 65-75.
- Haller B.C., de Vos J.M., Keller B., Hendry A.P., Conti E. (2014). A tale of two morphs: modeling pollen transfer, magic traits, and reproductive isolation in parapatry. *PLoS ONE* 9:e106512.
- Hansen T.F., Carter A.J.R., Pélabon C. (2006). On adaptive accuracy and precision in natural populations. *American Naturalist*, **168**, 168–181.
- Hernández A., Ornelas J.F. (2007) Development of distylous flowers and investment of biomass in male and female function in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Plant Biology*, **9**, 694–704.
- Herrera C.M., Castellanos M.C., Medrano M. (2006). Geographical context of floral evolution: towards an improved research programme in floral diversification.

Ecology and evolution of flowers, 278-294.

- Hodgins, K.A., Barrett, S.C. (2008). Asymmetrical mating patterns and the evolution of biased style-morph ratios in a tristylous daffodil. *Genetics Research*, **90**(1), 3-15.
- Johnson S.D., Steiner K.E. (1997). Long-tongued fly pollination and evolution of floral spur length in the *Disa draconis* complex (Orchidaceae). *Evolution*, **51**, 45–53.
- Keller B., Thompson J.D., Conti E. (2014). Heterostyly promotes disassortative pollination and reduces sexual interference in Darwin’s primroses: evidence from experimental studies. *Functional Ecology*, **28**, 1413–1425.
- Kissling J., Barrett S.C.H. (2013). Variation and evolution of herkogamy in *Exochaenium* (Gentianaceae): implications for the evolution of distyly. *Annals of Botany*, **112**, 95–102.
- Lau P., Bosque C. (2003). Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): an experimental test of the disassortative pollen flow hypothesis. *Oecologia*, **135**, 593–600.
- Lewis D., Jones D.A., (1992). The genetics of heterostyly. In: SCH Barrett, ed. Evolution and function of heterostyly. Berlin: *Springer-Verlag*, 129–150.
- Li P., Johnston M. O. (2001) Comparative floral morphometrics of distyly and homostyly in three evolutionary lineages of *Amsinckia* (Boraginaceae). *Canadian Journal of Botany*, **79**, 1332– 1348.
- Lloyd D.G., Webb C.J. (1992). The evolution of heterostyly. In: Barrett SCH, ed. Evolution and function of heterostyly. Berlin, Germany: *Springer*, 151–178.
- Machado A.O., Silva A.P., Consolaro H., Barros M.A.G., Oliveira P.E. (2010). Breeding biology and distyly in *Palicourea rigida* H.B. & K. (Rubiaceae) in the Cerrado of Central Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, **24**(3), 686-696.
- Mendonça L.B., Anjos L. (2006). Flower morphology, nectar features, and hummingbird visitation to *Palicourea crocea* (Rubiaceae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **78**, 45-57.
- Nepokroeff M., Bremer B., Sysma K.J., Botany S.S., Mar N.J. (1999). Reorganization

- of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. *Systematic Botany*, **24**, 5–27.
- Nishihiro J., Washitani I., Thomson J.D., Thomson B.A. (2000). Patterns and consequences of stigma height variation in a natural population of a distylous plant, *Primula sieboldii*. *Functional Ecology*, **14**, 502–512.
- Paillet, T., Thomson, J.D. (1997). Distyly and Variation in Heteromorphic Incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) Endemic To La Reunion Island. *American journal of botany*, **84**(3), 315–327.
- Pérez-Barrales R., Vargas, P., Arroyo, J. (2010). Pollinator shifts and the loss of style polymorphism in *Narcissus papyraceus* (Amaryllidaceae). *Journal of Evolutionary Biology*, **23**, 1117–1128.
- Pérez R., Vargas P., Arroyo J. (2004). Convergent evolution of flower polymorphism in *Narcissus* (Amaryllidaceae). *New Phytologist*, **161**, 235–252.
- Perez-Barrales R., Arroyo J., Armbruster W.S. (2007). Differences in pollinator faunas may generate geographic differences in floral morphology and integration in *Narcissus papyraceus* (Alarcissio papyraceris). *Oikos*, **116**, 1904–1918.
- R Core Development Team (2012). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Richards J.H., Koptur S. (1993). Floral variation and distily in *Guettarda scabra* L. (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, **80**, 31–43.
- Sá T., Furtado M.T., Ferrero V., Pérez-Barrales R., Rodrigues E.B., Dos Santos I.G., Consolaro H. (2016). Floral biology, reciprocal herkogamy and breeding system in four *Psychotria* species (Rubiaceae) in Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **182**(3), 689–707.
- Sampson D.A. Krebs R.A. (2012). Quantitative evaluation of reciprocal herkogamy in the distylous species, *Hedyotis caerulea* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **298**, 1361–1370
- Sánchez J.M., Ferrero V., Navarro L. (2008) A new approach to the quantification of degree of reciprocity in distylous (sensu lato) plant populations. *Annals of Botany*, **102**, 463–472.

- Sánchez L.M., Ferrero V., Navarro, L. (2013). Quantifying reciprocity in distylous and tristylous plant populations. *Plant Biology*, **15**, 616-620.
- Santos O.A., Webber A.C., Costa F.R.C. (2008). Biologia reprodutiva de *Psychotria spectabilis* Steyrm. e *Palicourea cf. virens* (Poepp & Endl.) Standl. (Rubiaceae) em uma floresta tropical úmida na região de Manaus, AM, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, **22**, 275-285.
- Santos-Gally R., Perez-Barrales R., Simón V.I., Arroyo, J.A. (2013a). The role of short tongued insects in floral variation across the range of a style-dimorphic plant. *Annals of Botany*, **111**, 317–328.
- Schluter, D. (1996). Adaptive radiation along genetic lines of least resistance. *Evolution*, **50**, 1766–1774.
- Schluter D. (2000). *The ecology of adaptive radiation*. Oxford: Oxford University Press.
- Taylor C.M. (1997). Conspectus of the genus *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotriaceae) with the description of some newspecies from Ecuador and Colombia. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **84**, 224–262.
- Tanner E.V.J. (1982) Species diversity and reproductive mechanisms in Jamaican trees. *Biological Journal of the Linnean Society*, **18**, 263–278.
- Teixeira L.A.G., Machado I.C. (2004). Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasílica*, **18**, 853–862.
- Valois-Cuesta H., Soriano P.J., Ornelas J.F. (2011) Asymmetrical legitimate pollination in distylous *Palicourea demissa* (Rubiaceae): the role of nectar production and pollinator visitation. *Journal of Tropical Ecology*, **27**, 393–404.
- Weller S.G., Domínguez C.A., Molina-Freaner F.E., Fornoni J., LeBuhn G. (2007). The evolution of distyly from tristily in populations of *Oxalis alpina* in the Sky Islands of the Sonoran Desert. *American Journal of Botany*, **94**, 972–985.
- Zhou W., Barrett S.C.H., Wang H., LI D.Z. (2012). Loss of floral polymorphism in heterostylous *Luculia pinceana* (Rubiaceae): a molecular phylogeographic perspective. *Molecular ecology*, **21**:4631–4645.

Zhou X., Jacobs T.B., Xue L.J., Harding S.A., Tsai C.J. (2015). Exploiting SNPs for biallelic CRISPR mutations in the outcrossing woody perennial *Populus* reveals 4-coumarate: CoA ligase specificity and redundancy. *New Phytologist*, **208**, 298-301.

Tabela 1. Estimativas da inacurácia e dados morfométricos florais de populações dimórficas de *Palicourea coriácea* (Rubiaceae). * Representa as porcentagens da média medida em mm². Os valores da Inacurácia são apresentados em porcentagens da inacurácia total que somam 100%. A inacurácia total é dada por um valor absoluto.

População	Tipo de elemento	Inacurácia(%)	Maladaptação do ótimo	Variância da antera	Variância do estigma	Inacurácia total	Média total da inacurácia estandardizada
Reserva Ecológica do IBGE/DF	Alto	47%	2.9	5.1	8.7	15.3 mm ²	1.8%
	Baixo	53%	4.0	8.2	5.2		
Tangará da Serra/MT	Alto	64%	15.6	8.0	17.1	7.0 mm ²	0.5%
	Baixo	36%	3.8	30.2	5.0		
Costa Rica/MS	Alto	48%	0.6	11.6	11.7	8.4 mm ²	1.0%
	Baixo	52%	10.4	10.7	5.9		
Jataí/GO	Alto	64%	17.6	9.3	14.0	14.7 mm ²	1.8%
	Baixo	36%	3.5	5.3	4.2		
Serranópolis/GO	Alto	34%	0.6	5.2	5.7	13.9 mm ²	1.6%
	Baixo	66%	6.6	5.1	7.3		
Fazenda São Roque - Serranópolis/GO	Alto	78%	38.5	1.7	19.9	8.6 mm ²	1.1%
	Baixo	22%	1.8	2.6	0.6		
Pires Belo/GO	Alto	48%	1.7	7.5	13.5	8.2 mm ²	1.0%
	Baixo	52%	8.2	14.8	6.9		
Pescan – Caldas Novas/GO	Alto	47%	1.2	10.7	10.0	12.0 mm ²	1.5%
	Baixo	53%	12.5	6.4	9.3		
Trilha do tatu – Anápolis/GO	Alto	39%	11.9	1.2	2.1	17.5 mm ²	2.4%
	Baixo	61%	31.3	3.8	2.1		
Rebio Professor José Ângelo Rizzo – Goiás/GO	Alto	62%	14.1	6.6	18.0	9.7 mm ²	1.2%
	Baixo	38%	5.8	6.0	2.5		
Fazenda – Cristalina/GO	Alto	58%	12.6	11.6	9.6	10.9 mm ²	1.4%
	Baixo	42%	5.7	5.5	6.2		
Parque Serra dos Pirineus – Pirenópolis/GO	Alto	58%	6.3	11.8	15.2	13.0 mm ²	1.7%
	Baixo	42%	5.5	5.7	6.6		
Média*	Alto	54%	10.3%	7.5%	12.1%	11.6 mm ²	1.4%
	Baixo	46%	8.2%	8.7%	5.2%		

Tabela 2. Estimativas da inacurácia e os diferentes componentes entre espécies e/ou populações no gênero *Palicourea*. Os valores da inacurácia são apresentados em porcentagens da inacurácia total que somam 100%. A inacurácia total é dada por um valor absoluto. Os valores de cada população nas espécies se encontra na tabela suplementar. 1= Mendonça & Anjos 2006 e Martén-Rodríguez et al. 2013; 2=Coelho 2013; 3=Valois-Cuesta et al. 2011; 4= Sobrevila 1983; 5= Pereira et al. 2006; 6= Feinsinger & Busy 1987 e Murcia & Feinsinger 1996; 7= Hernandez & Ornelas 2007; 8= Machado et al. 2010; 9= Martén-Rodríguez et al. 2013.

Espécie	Tipo de elemento	Inacurácia(%)	Maladaptação do ótimo	Variância da antera	Variância do estigma	Inacurácia total	Média total da inacurácia estandardizada
<i>Palicourea coriacea</i>	Alto	54%	10.3	7.5	12	11.6 mm ²	1.4%
	Baixo	46%	8.2	8.7	5.2		
<i>Palicourea crocea</i> ¹	Alto	72.1%	12.2	24.3	18.9	11.4 mm ²	0.7%
	Baixo	27.9%	3.6	3.8	3.0		
<i>Palicourea croceoides</i> ²	Alto	72.6%	34.9	14,5	13.0	4.3 mm ²	0.4%
	Baixo	27.4%	0.7	4.0	3.3		
<i>Palicourea demissa</i> ³	Alto	81.3%	58.7	0.0	18.3	10.6 mm ²	0.7%
	Baixo	18.7%	0.1	0.0	3.4		
<i>Palicourea fendleri</i> ⁴	Alto	40.3%	4.0	7.9	7.5	7.7 mm ²	0.6%
	Baixo	59.7%	22.0	11.2	10.6		
<i>Palicourea longipendunculata</i> ⁵	Alto	41.2%	6.4	7.0	7.3	5.6 mm ²	0.7%
	Baixo	58.8%	37.4	5.6	7.0		
<i>Palicourea lasiorrachis</i> ⁶	Alto	76%	46,3	7,3	23.5	17,1 mm ²	1,5%
	Baixo	27.3%	15,7	2.0	1.1		
<i>Palicourea marcgravii</i> ⁵	Alto	40.9%	3.7	11.1	4.1	11.5 mm ²	0.7%
	Baixo	59.1%	26.6	1.4	17.8		
<i>Palicourea padifolia</i> ⁷	Alto	48.8%	31.9	4.2	4.6	25.6 mm ²	2.7%
	Baixo	51.1%	43.4	2.2	1.5		
<i>Palicourea petiolaris</i> ⁴	Alto	73.6%	31.0	12.3	19.0	4.2 mm ²	0.4%
	Baixo	26.4%	11.6	2.4	1.4		
<i>Palicourea rigida</i> ⁸	Alto	49.8%	47.4	2.3	2.9	7.2 mm ²	0.5%
	Baixo	51.2%	33.7	1.7	2.2		
<i>Palicourea tetragona</i> ⁹	Alto	45.3%	0.2	6.8	13.6	40.4 mm ²	0.8%
	Baixo	54.7%	12.0	10.5	12.9		

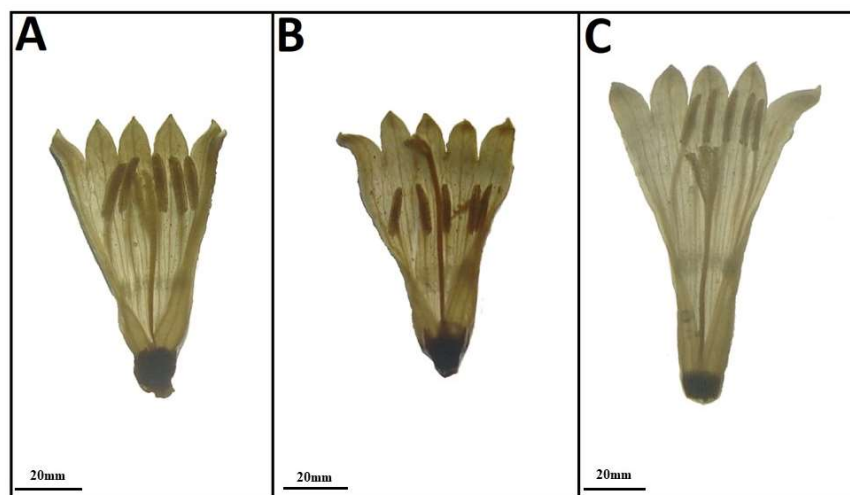


Figura 01: Caracterização dos morfos florais em populações de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae). A) Morfo homostilo, B) Morfo longistilo e C) Morfo brevistilo

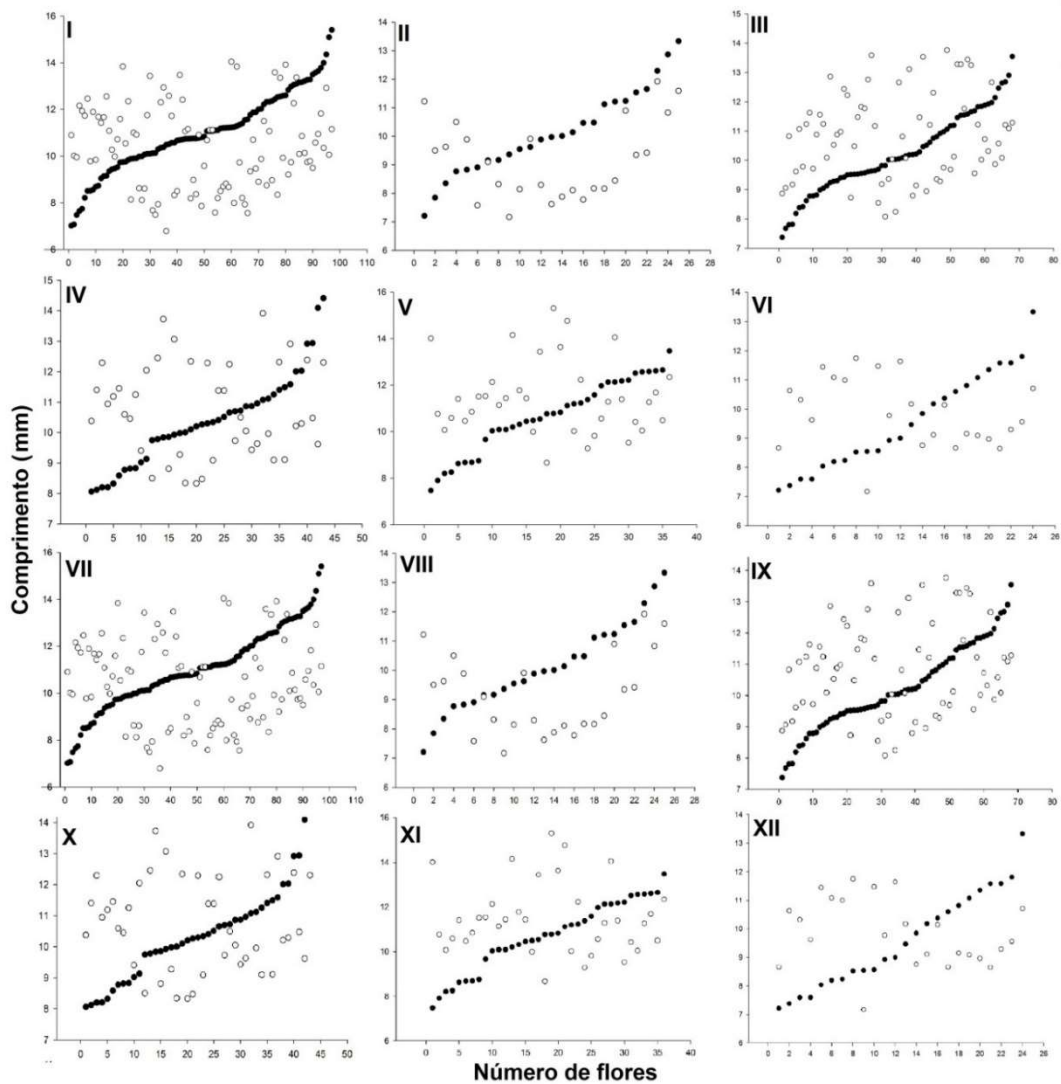


Figura 02. Variação da altura do pistilo (●) e altura do estame (○) nas doze populações de *P. coriacea* no Cerrado do Brasil Central. Algarismos romanos representam cada população. I- Reserva do IBGE/DF; II- Tangará da Serra/MT; III- Costa Rica/MS; IV- Jataí/GO; V- Serranópolis/GO; VI- Fazenda São Roque - Serranópolis/GO/ VII- Pires Belo/GO; VIII- Pescan – Caldas Novas/GO; IX- Trilha do tatu – Anápolis/GO; X- Rebio Professor José Ângelo Rizzo- Goiás/GO; XI- Fazenda – Cristalina/GO; XII- Parque Serra dos Pirineus – Pirenópolis/GO

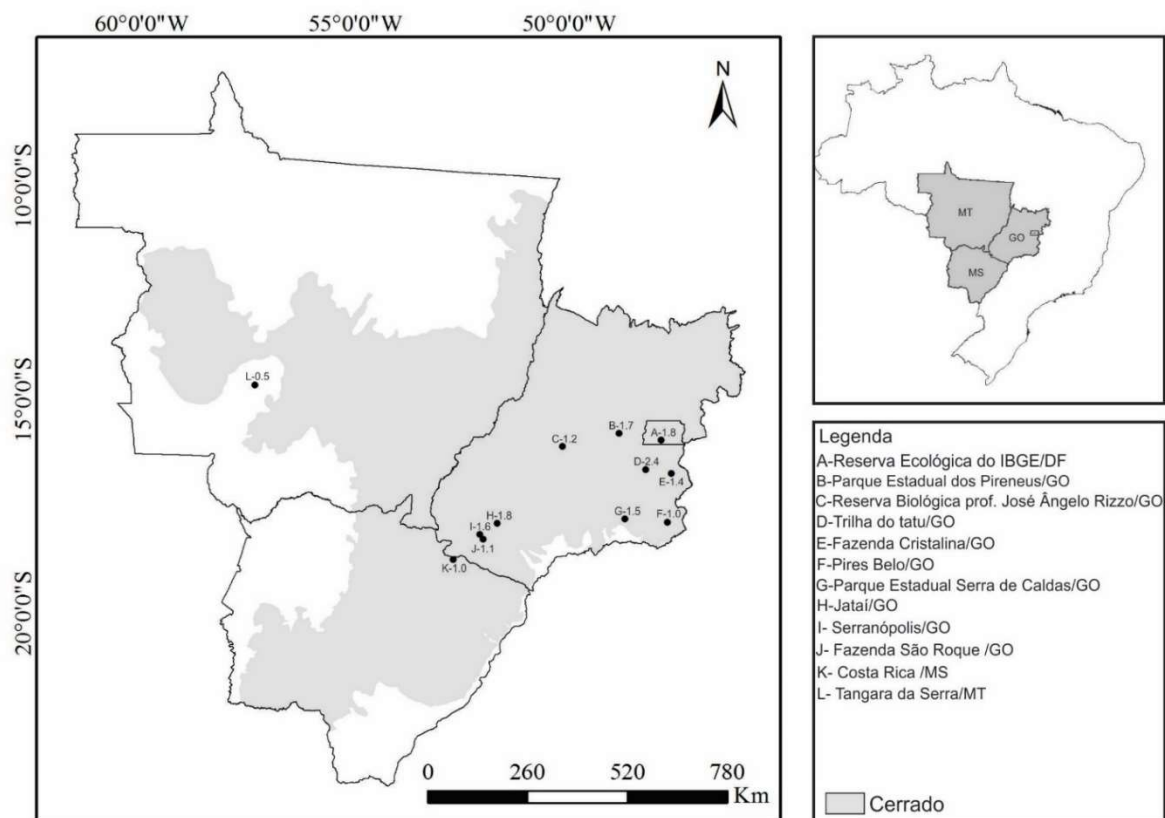


Figura 03. Localização geográfica e inacurácia de 12 populações de *Palicourea coriacea* no Cerrado

MATERIAL SUPPLEMENTAR

Tabela S1. Localização das doze populações dimórficas de *Palicourea coriacea* (Rubiaceae) no Cerrado do Brasil Central.

População	Coordenadas	
Costa Rica/MS	18°27'37.1''	052°01'38.1''
Fazenda – Cristalina/GO	47°64'35''	16°69'68''
Fazenda São Roque - Serranópolis/GO	18°28'44.9"	052°01'10.1"
Jataí/GO	51°41'24''	17°53'54''
Parque Serra dos Pirineus – Pirenópolis/GO	48°83'86''	15°79'26''
Pescan – Caldas Novas/GO	48°42'14"	17°47'34''
Pires Belo/GO	17°52'51.6''	047°42'15.8''
Rebio Professor José Ângelo Rizzo- Goiás/GO	50°10'12''	16°06'02''
Reserva do IBGE/DF	47°92'97''	15°77'97''
Serranópolis/GO	18°44'89.15"	52°05'42.98"
Tangará da Serra/MT	14°39'55''	057°21'47.4''
Trilha do tatu – Anápolis/GO	48°94'10''	16°38'14''

Tabela S2. Estimativas da inacurácia e os diferentes componentes entre espécies e/ou populações no gênero *Palicourea*. * Representa as porcentagens da média medido em mm². Os valores da inacurácia são apresentados em porcentagens da inacurácia total que somam 100%. A inacurácia total é dada por um valor absoluto.

Espécie	População	Tipo de elemento	Inacurácia(%)	Maladaptação do ótimo	Variância da antera	Variância do estigma	Inacurácia total	Média total da inacurácia estandadizada	Referência
<i>P lasiorrachis</i>	Costa Rica	Alto	72.7%	51.4	7.7	7.7	9.4mm ²	0.9%	Feinsinger & Busy 1987
		Baixo	27.3%	15.3	1.4	1.9			
<i>P lasiorrachis</i>	Costa Rica	Alto	72.6%	41.3	6.9	15.8	24.8 mm ²	2.1%	Murcia & Feinsinger 1996
		Baixo	27.4%	16.1	2.7	0.4			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	25.9%	20.6	0.6	0.8	38.0 mm ²	3.0%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	74.1%	71.2	0.4	1.7			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	69.8%	45.3	7.0	10.1	37.1 mm ²	3.8%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	30.2%	24.2	1.1	0.7			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	57.4%	37.5	7.0	4.5	19.8 mm ²	2.0%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	42.6%	31.6	2.5	2.2			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	33.0%	25.3	1.5	1.0	28.8 mm ²	3.4%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	67.0%	58.3	3.1	2.7			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	81.5%	76.1	2.0	2.4	24.3 mm ²	2.2%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	18.5%	14.9	0.5	0.2			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	70.0%	63.1	4.9	0.0	19.4 mm ²	2.5%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	30.0%	24.9	0.9	0.6			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	60.9%	29.9	3.7	15.2	9.7 mm ²	1.3%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	39.1%	14.9	4.7	4.7			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	36.9%	28.5	1.4	1.7	25.6 mm ²	3.2%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	63.1%	59.4	1.8	0.5			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	51.1%	1.4	15.5	9.9	17.8 mm ²	2.6%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	48.9%	41.0	3.7	0.1			
<i>P padifolia</i>	México	Alto	38.6%	23.0	2.0	4.0	41.9 mm ²	4.0%	Hernandez & Ornelas 2007
		Baixo	61.4%	55.0	2.2	1.7			

<i>P padifolia</i>	Costa Rica	Alto	12.3%	0.1	0.7	0.8	19.5 mm ²	1.8%	Ree 1997
		Baixo	87.7%	82.0	3.2	1.8			
Média*		Alto	48.8%	31.9%	4.2%	4.6%	25.6 mm ²	2.7%	
		Baixo	51.1%	43.4%	2.2%	1.5%			
<i>P rigida</i>	Brasil/MG	Alto	50.3%	46.2	1.7	0.4	0.8 mm ²	0.1%	Machado et al 2010
		Baixo	49.7%	46.2	1.4	0.3			
<i>P rigida</i>	Brasil/GO	Alto	81.1%	80.1	0.2	0.7	2.8 mm ²	0.2%	Machado et al 2010
		Baixo	18.9%	17.4	0.2	0.0			
<i>P rigida</i>	Brasil/DF	Alto	58.7%	16.0	5.2	7.8	18.1 mm ²	1.1%	Machado et al 2010
		Baixo	55.2%	37.4	3.4	6.3			
Média*		Alto	49.8%	47.4	2.3	2.9	7.2 mm ²	0.5%	
		Baixo	41.2%	33.7	1.7	2.2			
<i>P fendleri</i>	Venezuela	Alto	32.3%	6.3	4.6	3.8	10.2 mm ²	0.8%	Sobrevila 1983
		Baixo	67.7%	39.3	8.0	11.2			
<i>P fendleri</i>	Venezuela	Alto	48.3%	1.7	11.2	11.2	5.2 mm ²	0.4%	Sobrevila 1983
		Baixo	51.7%	4.8	14.3	9.9			
Média*		Alto	40.3%	4.0	7.9	7.5	7.7 mm ²	0.6%	
		Baixo	59.7%	22.0	11.2	10.6			
<i>P petiolaris</i>	Venezuela	Alto	76.1%	34.0	20.5	11.5	2.4 mm ²	0.3%	Sobrevila 1983
		Baixo	23.9%	6.7	2.5	1.6			
<i>P petiolaris</i>	Venezuela	Alto	71.2%	28.0	4.2	26.5	6.0 mm ²	0.6%	Sobrevila 1983
		Baixo	28.8%	16.6	2.3	1.2			
Média*		Alto	73.6%	31.0%	12.3%	19.0%	4.2 mm ²	0.4%	
		Baixo	26.4%	11.6%	2.4%	1.4%			
<i>P crocea</i>	Brasil/PR	Alto	72.1%	12.2	24.3	18.9	11.4 mm ²	0.7%	Mendonça & Anjos 2006
		Baixo	27.9%	3.6	3.8	3.0			
<i>P tetragona</i>	Costa Rica	Alto	45.3%	0.2	6.8	13.6	40.4 mm ²	0.8%	Martén-Rodríguez et al 2013
		Baixo	54.7%	12.0	10.5	12.9			

<i>P longipenduculata</i>	Brasil/MG	Alto	41.2%	6.4	7.0	7.3	5.6 mm ²	0.7%	Pereira et al., 2006
		Baixo	58.8%	37.4	5.6	7.0			
<i>P marcgravii</i>	Brasil/MG	Alto	40.9%	3.7	11.1	4.1	11.5 mm ²	0.7%	Pereira et al., 2006
		Baixo	59.1%	26.6	1.4	17.8			
<i>P croceoides</i>	Brasil/GO	Alto	72.6%	34.9	14.5	13.0	4.3 mm ²	0.4%	Coelho 2013
		Baixo	27.4%	0.7	4.0	3.3			
<i>P demissa</i>	Venezuela	Alto	81.3%	58.7	0.0	18.3	10.6 mm ²	0.7%	Valois-Cuesta et al 2011
		Baixo	18.7%	0.1	0.0	3.4			

Manuscrito 2

5.0 EFEITO DA COMPETIÇÃO MEDIADA POR POLINIZADORES ENTRE DUAS ESPÉCIES DIMÓRFICAS QUE CO-FLORESCEM

Manuscrito a ser enviado ao periódico *Annals of Botany*

Efeito da competição mediada por polinizadores entre duas espécies dimórficas que co-florescem

Tulio Sá^{1*}; Ebenezer B. Rodrigues²; Hélder Consolaro³; Cibele Castro de Castro¹; Rocío Pérez-Barrales⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Avenida Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil, 52171-900

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Federal de Uberlândia, Av. João Naves de Ávila, 2121 - Santa Mônica, Uberlândia - MG, Brasil, 38408-100

³ Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão, Av. Lamartine Pinto de Avelar, 1120, Setor Universitário, Catalão-GO, Brasil, 75704-020

⁴ School of Biological Sciences, University of Portsmouth, Portsmouth PO1 2DY, UK

*Autor para correspondência: tulio_filgueira@hotmail.com

RESUMO

Efeito da competição mediada por polinizadores entre duas espécies dimórficas que co-florescem. Estudos ecológicos com espécies vegetais que coflorescem tem aumentado, uma vez que as plantas com flores apresentam diversas estratégias que maximizam o sucesso reprodutivo dos indivíduos, especialmente relacionadas à remoção e deposição de pólen. A deposição de pólen heteroespecífica pode ser consequência de um alto grau de hercogamia recíproca (posicionamentos dos órgãos recíprocos entre morfos) interespecífica, podendo alterar a fecundação da espécie que recebeu pólen ilegítimo. é avaliar se a presença de *P. officinalis* interage de forma positiva ou negativa sobre *P. coriacea* no período de sobreposição da floração na taxa de visitação, deposição e remoção de pólen ao longo do dia e também, avaliar o grau de hercogamia recíproca intraespecífica de *P. coriacea* e interespecífica de *P. officinalis* com *P. coriacea*. O período de floração de *P. coriacea* e *P. officinalis* foi registrado em 40 e 20 indivíduos, respectivamente, em um transecto de ca. 900 m, permitindo pelo menos cinco metros de distância entre indivíduos da mesma espécie em visitas semanais. Os dados de remoção e deposição de pólen foram coletados em dois momentos: na estação em que floresceu apenas *P. coriacea* (mancha monoespecífica) e na fase em que *P. officinalis* floresceu concomitantemente à *P. coriacea* (mancha mista). Além disso, foi registrado a frequência do principal polinizador *Bombus atratus* sobre as duas espécies e realizados cálculos de hercogamia intra e interespecífica a fim de avaliar a precisão dos órgãos sexuais dentro e entre espécies respectivamente. As espécies divergiram o início da fenofase reprodutiva, mas cofloresceram por 4 semanas. Entre as espécies de *Palicourea* há competição por visitas, no entanto, a presença de *P. officinalis* parece ter um efeito positivo devido o aumento no número de visitas quando *P. coriacea* não compartilha do mesmo espaço com a espécie concorrente. Sendo assim, o efeito da cofloração parece resultar no processo de competição e facilitação ao mesmo tempo de acordo com a presença e ausência da espécie concorrente. Quanto a deposição de pólen, existe fortes indícios do pólen heteroespecífico em *P. coriacea* de acordo com os métodos propostos no presente trabalho podendo potencialmente interferir na reprodução da espécie.

Palavra-chave: Distilia, *Palicourea coriacea*, *Palicourea officinalis*, compartilhamento de polinizador, deposição e remoção de pólen.

INTRODUÇÃO

A polinização desempenha um papel fundamental na estrutura das comunidades vegetais (Botes *et al.*, 2008). Estudos com espécies que coflorescem e que compartilham o mesmo recurso e/ou visitantes florais têm sido uma questão central na ecologia (Leibold *et al.*, 2004). Sob tal condição, as interações entre espécies de plantas podem ser competitivas (Mitchell *et al.*, 2009; Takakura *et al.*, 2009; Muchhala e Thomson 2012), facilitadoras (Moeller 2004; Moragues e Traveset 2005; Ghazoul 2006; Lopezaraiza-Mikel *et al.* 2007; Liao *et al.*, 2011; McKinney e Goodell 2011; Sieber *et al.*, 2011) ou neutras (McGuire e Armbruster 1991; Wirth *et al.*, 2011).

Os efeitos da competição em espécies que compartilham do mesmo polinizador são limitados pela oferta de recurso das plantas concorrentes, também denominado competição por exploração (Chittka e Schurkens 2001; Hochkirch *et al.*, 2012) ou a interferência através da deposição de pólen interespecífica, resultando na redução de semente e/ou pólen (Morales e Traveset 2008; Flanagan *et al.*, 2010). Em contrapartida, um dos efeitos positivos da coexistência, é o aumento do número de visitas de uma espécie em decorrência da presença de outra coexistente, contribuindo assim com o aumento no sucesso reprodutivo da espécie (Moeller 2004; Ghazoul 2006). O efeito neutro ocorre quando não há deposição interespecífica, ou quando as taxas de visitação não são alteradas, não havendo nenhum efeito na espécie (Aigner 2004; Totland *et al.*, 2006). No entanto, esses efeitos sejam positivos, negativos ou neutros, muitas vezes são regidos pela densidade de plantas que a espécie apresenta ou a mudança de recursos de quando a espécie floresce sozinha ou quando a mesma cofloresce com outra planta (Zhong-Ming Ye *et al.* 2014).

Interações entre espécies que coflorescem, sejam elas positivas, negativas ou neutras podem não ser constantes na polinização pois, são dependentes de variáveis como o clima, abundância de polinizadores, densidade das plantas que coflorescem e outros fatores que podem oscilar a cada ano (Bjerknes *et al.*, 2007; Lazaro *et al.*, 2013). Especificamente, as interações negativas podem apresentar mecanismos que reduzam as interferências como, diferença no tempo de floração das espécies coexistentes (Stiles 1975;1977), divergência na liberação de pólen (Stone *et al.*, 1998), mudanças de aroma nas flores, atraindo diferentes grupos de polinizadores no processo de visitação (Salzmann *et al.*, 2006) e diferenças na altura dos órgãos sexuais, reduzindo a sobreposição no posicionamento do pólen no corpo do polinizador (Armbruster *et al.*,

1994). Por sua vez, esse último pode ser considerado um dos mecanismos físicos mais usados em espécies que florescem simultaneamente, pois reduzem a interferência sexual dentro da flor, evitando assim padrões similares na deposição de pólen a partir da segregação espacial de pólen no corpo do polinizador (Lloyd e Webb 1986; Barrett 2002; Hopkins 2013).

Um tipo específico de hercogamia ocorre em espécies heterostílicas cujas flores são compostas por dois (distílica) ou três (tristílica) morfos florais que apresentam diferenças recíprocas na altura das anteras e dos estigmas, denominado hercogamia recíproca (Ganders, 1979; Keller *et al.*, 2014). Esse mecanismo físico é considerado uma importante estratégia para plantas que apresentam dimorfismo porque potencializa o fluxo de pólen intermorfo nas espécies heterostílicas (Ganders, 1979). Uma das variáveis para estudo das interações ecológicas na polinização intra e interespecífica é a compreensão da dinâmica na transferência de pólen mediada pelo movimento de pólen (Adler e Irwin 2006). Testes experimentais que investigam o efeito da remoção e deposição entre espécies dimórficas que coflorescem são raros devido à dificuldade na coleta de dados. Uma das formas para avaliar as interações dentro da espécie é através de experimentos com polinizador na gaiola que testam a eficiência do polinizador na retirada e deposição de pólen (Conner *et al.*, 1995). Em contrapartida, a avaliação do movimento de pólen interespecífico não é uma metodologia fácil de ser aplicada devido à similaridade no tamanho do pólen (Snow e Lewis 1993).

A deposição de pólen heteroespecífica pode ser consequência de um alto grau de hercogamia recíproca interespecífica devido à contaminação de polens provenientes de outras espécies, podendo alterar a fecundação da espécie de planta (Keller *et al.*, 2012). Uma vez que a precisão da colocação e remoção de pólen está relacionada com a localização de pólen no corpo do polinizador a análise da inacurácia é um método matemático adequado para tal finalidade, pois mede o grau de precisão entre os órgãos recíprocos, além de discutir aspectos evolutivos das espécies que coexistem (Armbruster *et al.*, 1994). Aliado à análise da inacurácia, estudos com remoção e deposição de pólen são essenciais nas espécies distílicas, já que para promover a polinização cruzada é necessário a presença do polinizador na transferência do pólen ao estigma compatível (Ganders, 1979). Caso contrário, a deposição heteroespecífica de pólen causa desperdício à espécie doadora, além de bloquear o espaço para chegada do pólen compatível com a flor (Brown e Mitchell, 2001; Morales e Traveset, 2008).

Palicourea é um excelente gênero para estudos com remoção e deposição de pólen, uma vez que comumente apresentam sincronopatria e como consequência podem ser potencialmente competidoras (Hutchinson, 1959). Especificamente, *Palicourea coriacea* (Cham.) K.Schum é uma espécie modelo adequada para estudos devido aos registros de coexistência e o compartilhamento de polinizadores com *Palicourea officinalis* Mart. (Consolaro *et al.*, 2009). As flores de *P. coriacea* e *P. officinalis* apresentam corola tubular branca e vermelha, respectivamente, antese as 6:00 horas da manhã, e longevidade floral de aproximadamente 12 horas em ambas as espécies. A receptividade estigmática e a liberação de pólen são iniciadas logo após a abertura da flor sendo o néctar a principal fonte de recurso. Visitas prévias ao local de estudo mostraram a abelha solitária *Bombus atratus* Franklin 1913 visitando ambas as espécies de *Palicourea*. Abelhas solitárias comumente concentram suas visitas quando a disponibilidade de recompensa apresenta bons níveis de oferta nutritiva (Raine *et al.*, 2007). No entanto, quando há declínio de pólen e/ou néctar, as mesmas abandonam a área em busca de melhores locais que proporcione uma maior quantidade de recurso (Frankie *et al.*, 1976; Strickler, 1979; Ginsberg, 1984).

O objetivo do estudo é avaliar se a presença de *P. officinalis* interage de forma positiva ou negativa sobre *P. coriacea* no período de sobreposição da floração na taxa de visitação, deposição e remoção de pólen ao longo do dia e também, avaliar o grau de hercogamia recíproca intraespecífica de *P. coriacea* e interespecífica de *P. officinalis* com *P. coriacea*. Baseado nos objetivos e nos trabalhos supracitados, propusemos as seguintes hipóteses: (1) Há competição por visitas entre as espécies de *Palicourea*; (2) Se as espécies de planta competem pelo mesmo polinizador (hipótese verdadeira), *Bombus atratus* é fiel a visitação floral de *P. coriacea*, e flexível nas escolhas de forrageamento na presença de *P. officinalis*; (3) A quantidade de pólen em anteras e estigma muda na presença e na ausência de *Palicourea officinalis*; (4) *Bombus atratus* transfere quantidades similares de carga polínica entre os morfos de *P. coriacea*; (5) Os graus de hercogamia intraespecífica é maior do que interespecífica.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e espécies

O presente estudo foi conduzido em uma área de Cerrado localizado na Reserva Ecológica do IBGE a 35 km ao sul de Brasília e com uma elevação de 1100 (15°55'-15°58'S e 47°52'-47°55'W). O clima da região é tipo CW (classificação de Köppen) com estação seca de maio a setembro e chuvosa de outubro a abril, com uma altitude de 1000 a 1.150m, precipitação média de 1.550 mm e temperatura média de 21 ° C (Consolaro *et al.*, 2009).

Fenologia de floração

O período de floração de *P. coriacea* e *P. officinalis* foi registrado em 40 e 20 indivíduos, respectivamente, em um transecto de ca. 900 m, permitindo pelo menos cinco metros de distância entre indivíduos da mesma espécie. Tal método tem como objetivo, avaliar o período de sobreposição de floração de ambas espécies durante o período de estudo. As observações foram feitas semanalmente durante o período de outubro a dezembro de 2015, quando foi registrado o número de flores abertas em cada planta marcada. O índice de atividade foi utilizado para comparar a porcentagem de indivíduos que apresentaram fenofase em flor nas espécies (Bencke e Morellato, 2002). Para calcular a sobreposição de floração de espécies simpátricas, aplicamos o índice Pianka (1973), que varia de 0 (sem sobreposição) a 1 (sobreposição total), dado pela equação:

$$O_{jk} = \frac{\sum_i^n P_{ij} P_{ik}}{\sqrt{\sum_i^n P_{ij}^2 \sum_i^n P_{ik}^2}}$$

Onde O_{jk} = Medida de sobreposição dos caracteres florais de Pianka entre espécies i and j ; p_{ij} = proporção do número de flores i de acordo com o total da espécie j ; p_{ik} = proporção do número da flor i de acordo com o total da espécie k . O valor gerado pela sobreposição foi arbitrariamente considerado: Os resultados da sobreposição interespecífica foram arbitrariamente considerados como alto ($>0,6$), intermediário (0,4-0,6) ou baixo ($<0,4$) (Grossman, 1986).

Análise de inacurácia intra e interespecífica

A análise da inacurácia avalia o grau de sobreposição dos órgãos recíprocos dentro da espécie (intraespecífica) e entre as espécies (interespecífica). Com isso, flores foram previamente coletadas em campo (N=40 para cada espécie), armazenadas em álcool 70% e posteriormente analisadas pelo software ImageJ 5.0 (Soft Imaging System GmbH,

Munster, Germany). A altura do pistilo foi calculada pela soma na altura do pistilo mais a metade do comprimento do estigma. Para a altura dos estames, foi medida a altura completa menos a metade da antera. Esse cálculo foi necessário para não superestimar a altura dos órgãos reprodutivos altos (antera brevistila e estigma longistilo) e baixos (antera longistila e estigma brevistilo), visto que o lobo estigmático é bífido e a liberação do pólen ocorre na metade das anteras.

Na análise intraespecífica (1), a altura dos órgãos altos (antera brevistila com estigma longistilo) e baixos (antera longistila com estigma brevistilo) foi calculada de acordo Armbruster et al., (2017) em *P. coriacea*. A análise interespecífica (2) calculou a altura das anteras de *P. officinalis* com a altura dos estigmas de *P. coriacea*. De acordo com esse índice de reciprocidade, quanto mais próximo de 0 menor será a inacurácia, sendo 0 a reciprocidade intermorfo perfeita (Armbruster et al., 2017).

$$1) \text{Inacurácia}_{\text{Orgão baixo}} = (\bar{A} - \bar{E})^2 + V_A + V_E$$

$$\text{Inacurácia}_{\text{Orgão alto}} = (\bar{a} - \bar{e})^2 + V_a + V_e$$

$$2) \text{Inacurácia}_{\text{Orgão baixo}} = (\bar{A}_{PO} - \bar{E}_{PC})^2 + V_{APO} + V_{EPC}$$

$$\text{Inacurácia}_{\text{Orgão alto}} = (\bar{a}_{po} - \bar{e}_{pc})^2 + V_{apo} + V_{epc}$$

Em (1), \bar{A} é a média da população das anteras dos estames altos em *P. coriacea*, \bar{E} é altura média dos estigmas altos em *P. coriacea*, \bar{a} é a altura média das anteras dos estames baixos em *P. coriacea*, \bar{e} é a altura média dos estigmas curtos (Fig. 1). Em (2), \bar{A}_{PO} é a média da população das anteras dos estames altos em *P. officinalis*, \bar{E}_{PC} é altura média dos estigmas altos em *P. coriacea*, \bar{a}_{po} é a altura média das anteras dos estames baixos em *P. officinalis* e \bar{e}_{pc} é a altura média dos estigmas curtos em *P. coriacea* (Figura 1). V é a variância das respectivas alturas dos órgãos sexuais nas fórmulas.

Visitantes florais, remoção e deposição de pólen em condições naturais

Os dados de polinizadores foram coletados juntamente com dados de remoção e deposição de pólen em condições naturais, a fim de avaliar a relação de deposição e liberação de pólen com a frequência de polinizadores. Tais avaliações foram realizadas quando floresceu apenas *P. coriacea* na área e quando *P. officinalis* sobrepôs a floração com *P. coriacea*. Tais dados foram coletados por até seis pesquisadores, quando *P. coriacea* floresceu antes de *P. officinalis* (Floresceu antes - ANT) e quando cofloresceu com *P. officinalis*. Quando ambas as espécies estavam florescendo juntas dentro da mesma área, os dados foram coletados em manchas onde *P. coriacea* se apresentava de forma monoespecífica (Monoespecífico - MON) e em manchas onde floresceu junto com *P. officinalis* (Cofloresceu - COF). Na mancha MON e COF, as observações foram realizadas simultaneamente por vários observadores. Nas observações, manchas com 5 a 10 plantas foram observadas entre 7:00-15:00 horas com intervalos de 10 minutos e 5 minutos para o deslocamento da próxima mancha. Durante as observações, o número de visitas e a identificação do visitante floral ao nível taxonômico mais baixo foram anotados. Nas manchas COF e MON, as observações foram realizadas de forma simultânea e o número de indivíduos foi semelhante. No final das observações, os insetos foram coletados e enviados para identificação, enquanto os beija-flores foram identificados no local. Na mancha COF, foi quantificado o número de visitas de cada polinizador nas espécies de *Palicourea* a fim de avaliar o número total de visitas para cada espécie. Os insetos coletados foram depositados no Laboratório Integrado de Zoologia e Botânica da Universidade Federal de Goiás Regional Catalão (Brasil).

Para quantificar o pólen removido das anteras e a deposição de pólen em estigmas por polinizadores em condições naturais, as flores de *P. coriacea* foram coletadas em cinco horários (N = 30 cada horário e população) entre 7:00 e 15:00 h a cada duas horas (N = 30 cada horário e população). Flores foram armazenadas em frascos individuais e congeladas até serem analisadas no laboratório. As flores foram coletadas nas populações ANT, COF e MON. Todos os tratamentos realizados nas populações foram repetidos e as coletas nas manchas MON e COF foram realizadas no mesmo dia. Em laboratório, anteras e estigmas foram visualizados com o microscópio e contabilizados os pólenes nas cinco anteras de cada flor separadas dos estigmas, usando safranina com glicerina para facilitar a contagem sobre a lâmina. A flor foi removida do congelador apenas no momento da contagem.

Remoção de pólen nas anteras e transferência de pólen para os estigmas sob condições experimentais

A probabilidade de transferência de pólen legítima e ilegítima em *P. coriacea* foi estudada sob condições experimentais usando uma gaiola (50 x 50 x 50 cm) e abelhas *Bombus atratus*, pois este foi considerado como o principal polinizador no local de estudo (Consolaro et al., 2009) (Tabela 1). Os tratamentos foram criados usando um morfo como doador de pólen e os dois morfos como flores receptoras. Para cada experimento foram utilizados 1 flor para cada indivíduo receptor e doador. As plantas com botões florais maduros foram coletadas no dia anterior do experimento e isoladas para evitar o contato dos polinizadores. As flores consideradas como receptores foram emasculadas (as anteras foram retiradas). Doze abelhas também foram coletadas, mantidas na geladeira e cuidadosamente limpas com um cotonete de algodão úmido para remover o pólen de seus corpos e evitar a contaminação do pólen.

Os tratamentos foram realizados entre as 7:00 e as 9:00 horas. Cada experimento foi conduzido com uma abelha individual diferente, e os ensaios foram considerados válidos se, a abelha primeiro visitasse o doador individual e apenas uma visita em cada receptor. As abelhas foram liberadas ao final de cada experimento e as flores doadoras e receptora de pólen foram mantidas em frascos individuais e congeladas até serem analisadas. No laboratório, foram montadas lâminas com o estigma das flores receptoras de pólen e as cinco anteras de cada flor doadora usando safranina com glicerol. No total, cinco ensaios foram realizados para doadores florais longistilos e brevistilos. A contagem de pólen foi realizada após a confecção das lâminas.

Análise dos dados

Usando modelos de efeitos mistos lineares generalizados (GLMMs), nós analisamos o número de visitas entre polinizadores e espécies ao longo do dia, a taxa de deposição e remoção de pólen em ambiente natural, finalmente, a quantidade de pólen depositado e removido entre os morfos florais a cada primeira visita de *Bombus atratus* no experimento da gaiola. Nós usamos uma distribuição de Poisson e a variável "pesquisador" foi usada como efeito aleatório em todos os modelos lineares, devido à coleta de dados biológicos terem sido realizadas por diferentes pesquisadores.

Nos experimentos com observação dos polinizadores foram usados intervalos de observação, polinizador e espécies de *Palicourea* como variáveis preditoras, e o número de visitas como variável dependente para testar se a diferença no número de visitas muda ao longo do dia e se há preferência do polinizador em visitar as espécies. Foi criado outro modelo para responder se há diferença no número de visitas de *B. atratus* a *P. coriacea* na presença e ausência de *P. officinalis* (variável dependente). Para isso, foi incluído o número de visitas e presença/ausência de *P. officinalis* como variável independente (Tabela 2).

Nas análises de deposição e liberação de pólen em campo foram realizadas quatro modelos para descrever a quantidade de pólen depositada nos estigmas e a quantidade de pólen presente nas anteras ao longo do dia e entre os morfos. No experimento, foram utilizados dois modelos para avaliar a quantidade de pólen que as abelhas removeram das anteras e que depositaram no estigma a cada visita (Tabela 03). No experimento da gaiola de remoção de pólen em cada morfo doador, foi utilizado o pólen sobre os estigmas como variável dependente e morfo receptor como variável independente (Tabela 04). Para avaliar a quantidade de pólen no estigma de cada doador e morfo, foi utilizado o pólen no estigma das flores como variável dependente e receptor como variável independente. As análises foram conduzidas usando comparações múltiplas com a função `glht` do pacote estatístico `Mulcomp` (Hothorn *et al.*, 2008). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando R v.3.4.0 (R Development CoreTeam, 2013). Em todas as análises, utilizamos a função `lme` no pacote 'lme4' (Bates *et al.*, 2014).

RESULTADO

Fenologia de floração

Palicourea coriaceae e *P. officinalis* iniciaram a floração no mês de outubro e novembro, respectivamente, com um intervalo de floração de cinco semanas entre as espécies (Figura 1). Durante o período de estudo a floração das espécies cogenéricas obteve uma sobreposição de 39% demonstrando sincronia no período de floração, de acordo com o índice de Pianka. O índice de atividade demonstrou que *P. coriacea* permaneceu entre 25 e 50% de emissão de flores. Em oposição, *P. officinalis* mostrou um alto índice de atividade, emitindo em um curto período de tempo cerca de 50% a mais

comparado com *P. coriacea*, ou seja, o dobro da quantidade de flores de acordo com o índice de atividade (Figura 1).

Análise de inacurácia intra e interespecífica

A análise de inacurácia intraespecífica de *P. coriacea*, revela que a espécie apresentou inacurácia de 7,3 mm² nos órgãos sexuais altos e 8,1 mm² nos órgãos sexuais baixos, com uma inacurácia total de 15,3 mm². O último valor, por sua vez, representa 47,4% da inacurácia nos órgãos sexuais altos e 52,6% nos órgãos baixos. Na análise interespecífica (altura da antera de *P. officinalis* sobre altura do estigma de *P. coriacea*), o valor de inacurácia nos órgãos altos foi de 6,2 e 2,6 nos órgãos baixos, totalizando 8,8 da inacurácia entre as espécies. O valor em porcentagem da inacurácia interespecífica representa 70,2% nos órgãos altos e 29,8% nos órgãos baixos. Com isso, os dados revelam que as chances de haver uma deposição interespecífica são maiores do que a deposição de pólen da própria espécie *P. coriacea*.

Visitantes florais

No total, foram acumuladas 48 horas de observação em *P. coriacea* durante o período de floração na mancha ANT. A maioria (93,6%) das visitas a *P. coriacea* foi realizada por *Bombus atratus*, beija-flores também visitaram a espécie (Tabela 5). Os modelos lineares mistos generalizados mostraram que houve diferenças estatisticamente significativas no número médio de visitas durante o dia, com maiores frequências entre 7:00 e 9:00, declinando rapidamente ao longo do dia (Fig. 2; ANT). Quando *P. coriacea* e *P. officinalis* floresceram ao mesmo tempo, foram acumuladas um total de 96 horas (48 horas nas manchas monoespecíficas e 48 horas nas manchas mistas) (Fig. 2: MON e COF). Nas manchas monoespecíficas, o número de visitas em geral foi superior comparada com as manchas de coflorescimento (COF). A última, por sua vez, apresentando beija-flor como o segundo polinizador mais frequente (Tabela 05; Figura 02).

A análise mostrou que havia diferentes padrões de visitas ao longo do dia (Fig. 2). Quando ambas as espécies floresceram, mas não compartilharam o mesmo local na área de estudo (MON), o número de visitas diferiu significativamente, aumentando durante o dia e reduzindo à tarde. Finalmente, o número de visitas de *P. coriacea* em COF permaneceu mais estável em comparação com as outras populações, já que compartilha

o mesmo local com *P. officinalis* (Figura 2). Os beija-flores foram observados visitando apenas na primeira hora em *P. coriacea* em oposição a *P. officinalis* que foram observados na maioria dos horários. Em *P. officinalis*, o número de visitas declinou durante as observações.

Ao comparar o número de visitas apenas de *B. atratus* entre manchas monoespecíficas e mancha em co-florescimento, percebe-se que a quantidade de visitas foi maior em MON aumentando ao longo do dia e diminuindo ao final da longevidade floral em *P. coriacea* (Figura 3). Na população em que *P. coriacea* compartilhou do mesmo espaço com *P. officinalis* (COF), o número de visita de *B. atratus* foi inferior em *P. coriacea* e superior em *P. officinalis* apesar de não haver diferenças significativas (Tabela 02; Figura 4). Portanto, os dados confirmam a hipótese de que há competição por visitas de *B. atratus* entre as espécies que coflorescem.

Remoção e deposição de pólen em populações naturais

No experimento de remoção e deposição de pólen, em geral, havia menos pólen nas anteras das flores coletadas no final da tarde do que no início da manhã. Além disso, as flores do morfo longistilo apresentaram uma maior quantidade de pólen deixado nas anteras do que as flores do morfo brevistilo consistentemente através dos diferentes intervalos observados (Tabela 3; Figura 5). Na presença de *Palicourea officinalis* (COF), a quantidade de pólen nas anteras foi alta em ambos os morfos. Contudo, , na ausência de *P. officinalis*, a taxa de liberação de pólen foi maior (MON). Em geral, a quantidade de pólen nos morfos florais em ANT e MON foi reduzido ao fim da longevidade floral, principalmente no morfo longistilo, em contraste, na população COF a taxa de liberação permaneceu mais instável ao longo do dia e entre morfos (Tabela 3; Figura 5). Além disso, houve diferença na quantidade de pólen nas anteras entre os morfos, ao longo do dia, assim como nas populações MON, ANT e COF (Tabela 4).

A taxa de deposição de pólen nos estigmas diferiu entre morfos em ANT (Tabela 3). Observa-se que, quando as espécies coflorescem, há uma diferença significativa na deposição entre os morfos e populações (MON e COF), porém esta diferença é maior na população COF com a presença de *P. officinalis* (Figura 6). A taxa de deposição de pólen variou ao longo do dia e não houve aumento gradual no final do dia (Figura 5). Ao comparar a taxa de deposição de pólen entre os morfos, percebe-se que antes de *P.*

officinalis florescer (ANT), a taxa deposição de pólen no morfo brevistilo foi superior na maioria dos horários com uma média de 100 grãos de pólen por estigma. Contudo, essa média de deposição foi duplicada nas manchas em que *P. officinalis* estava presente (COF), não havendo um padrão de deposição de pólen nos estigmas e os intervalos de observação. A taxa de deposição de pólen variou ao longo do dia, não havendo aumento gradual no final da longevidade floral, com exceção da população MON que apresentou uma maior quantidade de pólen nos estigmas até as 13:00 horas (Figura 6).

Remoção de pólen nas anteras e transferência de pólen para os estigmas sob condições de controle

Em média, o número de grãos de pólen presentes nas anteras após uma visita não diferiu entre as flores brevistilas e longistilas, com uma média de $427,19 \pm 219,6$ e $475 \pm 198,6$, respectivamente. No entanto, a análise da carga de pólen no estigma mostrou padrões interessantes. As flores do morfo brevistilo doaram pólen em quantidades semelhantes tanto para o morfo oposto quanto para estigma do próprio morfo não havendo diferenças significativas entre os estigmas dos morfos receptores de pólen (Figura 07). Em contraste, quando as flores longistilas funcionaram como doadores de pólen, houve diferenças na chegada de pólen aos estigmas dos morfos longistilo e brevistilo (Tabela 04; Figura 07).

DISCUSSÃO

Os dados do presente estudo demonstram que espécies que coflorescem e compartilham dos mesmos polinizadores podem ser consideradas potencialmente competidoras (Pauw, 2013). Tal relação ecológica é minimizada quando as espécies de plantas competidoras apresentam (1) divergência no local de deposição de pólen no corpo dos polinizadores, (2) atraem diferentes polinizadores ou (3) florescem em diferentes épocas do ano ou dia a fim de reduzir prejuízos na produção de sementes (Armbruster e Herzig, 1984; Stone, Willmer & Rowe 1998; Muchhala e Thomson, 2012). Dessa forma, a divergência nos padrões de floração de *P. coriacea* parece ter um efeito positivo, visto que reduz a sobreposição ecológica com *P. officinalis* (Moles e Westoby, 2003; Moeller, 2004; Botes *et al.*, 2008; Chuine, 2010). Além disso, essa divergência no início da floração é importante para *P. coriacea*, porque diminui as chances da deposição

heteroespecífica, uma vez que as espécies compartilham do mesmo polinizador na sobreposição da floração.

Em *P. coriacea*, os registros de observação dos polinizadores em diferentes estações fenológicas de floração, demonstraram que na presença de *P. officinalis* o número de visitas em *P. coriacea* intensifica quando a mesma se encontra em populações monoespecíficas (MON) dentro da área de estudo. Em contrapartida, a quantidade de visitas parece ser dividida entre espécies que coexistem quando *P. coriacea* e *P. officinalis* compartilham a mesma mancha, havendo sobreposição de recursos florais entre as espécies. Sabendo que as avaliações dos polinizadores nas manchas ANT e COF foram as mesmas, é presumível que a floração de *P. officinalis* torna a parcela mais densa quando *P. coriacea* divide o mesmo espaço com a espécie cogenérica. É esperado que com o aumento na densidade de plantas que coexistem e que compartilham o mesmo polinizador, a taxa de polinização na parcela em que as espécies coflorescem aumente, visto que é comum os polinizadores concentrarem os esforços em manchas mais densas, corroborando com a teoria do forrageamento ideal (Ghazoul, 2005).

Tal afirmação é evidenciada quando *P. coriacea* floresceu sozinha e quando a mesma cofloresceu com *P. officinalis*. No entanto, a teoria não pode ser aplicada se compararmos dentro da cofloração as subpopulações MON e COF, uma vez que, a média na taxa de visitação foi maior quando a parcela apresentava apenas *P. coriacea*. Essa condição é necessária para espécies competidoras que compartilham do mesmo recurso e polinizador sendo assim necessária a separação temporal ou espacial nas espécies de *Palicourea* (Hutchinson, 1959; Ricklefs, 2003). A presença de *P. officinalis* interfere na taxa de visitação de *P. coriacea* quando ambas compartilham a mesma mancha (COF), em contrapartida, a presença da espécie concorrente parece interagir de forma positiva em *P. coriacea* em manchas isoladas (MON) influenciando no aumento do número de visitas. Além disso, avaliando a taxa de visitação, é possível que *P. coriacea* participe tanto no processo de competição quanto facilitação, no entanto, essas interações ocorrem em subpopulações dentro da área, de acordo com o compartilhamento espacial ou não da espécie concorrente. De acordo com alguns estudos, essas interações podem não ser constantes devido oscilação na abundância dos polinizadores e na densidade da floração nas plantas que coexistem (Figura 3;4) (Bjerknes *et al.*, 2007; Lazaro *et al.*, 2013). Acredita-se que o resultado dessas interações entre espécies co-ocorrentes esteja relacionado com a densidade nas manchas, ou seja, tanto a competição quanto a

facilitação poderia mudar caso a quantidade de indivíduos da espécie concorrente também mudasse (Feldman *et al.*, 2004; Zhong-Ming Ye *et al.*, 2014).

Observações realizadas ao longo do dia revelaram que *P. coriacea* apresentou um padrão decrescente no número de visitas ao longo do dia (ANT), porém a coexistência de uma segunda espécie florescendo torna o padrão de visitas descontínuo, tanto em manchas isoladas (MON) quanto em manchas que as espécies coexistem (COF). Um trabalho realizado com *Psychotria suerrensii* encontrou um padrão de visitas para abelhas do gênero *Euglossa* similar a população ANT de *B. atratus* (Stone, 1996). É comum a taxa de visitação decrescente em *P. coriacea* na população ANT assim como em espécies do mesmo gênero devido ao horário de atividades dos polinizadores serem maiores até as 9:00 da manhã reduzindo as 17 horas, no entanto, esse padrão muda com a floração de *P. officinalis* (Ree, 1997). Consequentemente, essa taxa de visitação ao longo do dia nas espécies de *Palicourea*, reflete no padrão de remoção de pólen em *Palicourea coriacea* (Kulbaba e Worley, 2014).

O padrão de remoção de pólen na população em que as espécies compartilharam o mesmo espaço (COF) não foi regular como registrado nas outras populações, apresentando uma grande quantidade de pólen nas anteras. Dessa forma, se houve um maior número de visitas em *P. officinalis* é esperado que a retirada de pólen fosse menor em *P. coriacea*, ou seja, quanto maior a taxa de visitação, maior comumente será a remoção e deposição (Sahli e Conner, 2011). Curiosamente, a taxa de remoção de pólen na população ANT foi similar a MON e inferior a população COF, que por sua vez compartilhou da mesma estação fenológica reprodutiva. Sendo assim, é presumível que os pólenes presentes nos estigmas de *P. coriacea*, na população COF, sejam provenientes de ambas as espécies. Os indícios de deposição de pólen heteroespecífico em *P. coriacea* são justificados pelos seguintes resultados: (1) A taxa de visitação em *P. coriacea* na parcela MON foi maior do que na COF; (2) A quantidade de pólen presente nas anteras foi superior na população COF e inferior na MON (hipótese verdadeira); (3) a taxa de deposição de pólen foi maior na presença de *P. officinalis*; e (4) a análise da inacurácia interespecífica foi menor do que a inacurácia intraespecífica. É esperado um fluxo de pólen incompatível entre espécies, visto que, o posicionamento das anteras de *P. officinalis* apresentou uma maior exatidão nos estigmas de *P. coriacea* do que da própria antera na mesma espécie, resultando em uma alta hercogamia interespecífica e baixa intraespecífica. (Thompson *et al.*, 2012). Dessa forma, o posicionamento das estruturas

reprodutivas de *P. officinalis* compromete a eficiência do polinizador em *P. coriacea* (Lau e Galloway, 2004; Anderson e Johnson, 2008) e limitando a chegada de pólen compatível na espécie em estudo (Waser e Fugate, 1986; Fishbein e Venable, 1996).

Acreditamos haver interações tanto positivas quanto negativas, porém, essas relações ecológicas parecem ser influenciadas dentro de subpopulações onde a distribuição espacial da espécie concorrente vai gerar um cenário de interações assimétricas dentro da área, atraindo mais polinizadores em manchas monoespecíficas de *P. coriacea* e competindo por visitas em manchas onde ambas as espécies de *Palicourea* compartilham do mesmo espaço. Estudos a respeito dos comportamentos dos polinizadores atribuem o processo de visitação floral a preferência ou constância dos agentes em capturar os recursos florais (Waser, 1986; Husband e Barrett, 1992; Rasmussen *et al.*, 2010). A constância se refere às espécies de polinizadores que apresentam um sequenciamento na visitação floral da mesma espécie, anulando a concorrente mesmo que a oferta seja similar. Em contrapartida, a preferência resulta no aumento no número de visitas da espécie preferida (Waser, 1986; Husband e Barrett, 1992). Tal comportamento reduz a transferência de pólen nas espécies cogenéricas (Gegear e Laverty, 2005) além de evitar a obstrução de pólen nos estigmas das espécies cogenéricas (Morales *et al.*, 2008). Em *P. coriacea* parece não ter havido preferência nem constância no processo de visitação floral por parte de *B. atratus*, uma vez que na presença da cofloração o número de visitas entre as populações MON e COF foi estatisticamente significativo (Tabela 02). A condição de *B. atratus* ser flexível em capturar recursos de diferentes espécies vegetais e visitar flores de outras espécies parece ser comum no gênero *Bombus* (Heinrich, 1976; Ogilvie, 2014; Ogilvie e Thomson 2015). Dessa forma, mesmo que *B. atratus* seja flexível no processo de visitação nas espécies, a mesma se mantém fiel a visitação floral de *P. coriacea* (hipótese verdadeira).

O fato de *P. coriacea* apresentar dimorfismo floral, compartilhar o polinizador e o espaço com outra espécie distílica, torna a espécie propensa a interações negativas, podendo sofrer mudanças, seja no mecanismo de deposição de pólen ou no sistema reprodutivo (Armbruster *et al.*, 1994; Fishman e Wyatt, 1999). Os experimentos da gaiola com *B. atratus* revelaram que há assimetria em depositar pólen. O morfo brevistilo doa carga similar de pólen para o estigma do próprio morfo e para o morfo recíproco em *P. coriacea*, no entanto, o morfo longistilo demonstra mais eficiência na transferência de pólen compatível doando uma maior quantidade de pólen para o estigma do morfo oposto

(hipótese verdadeira). Casos como esses são registrados em outras espécies distílicas assim como em *P. coriacea* (Domme et al., 1992; Stone e Thomson 1994; Ornelas et al., 2004). Registros de deposição de pólen ilegítimo nos estigmas do morfo brevistilo parece ser comum nas espécies de *Palicourea* e *Psychotria* (Ree, 1997; Lau e Bosque, 2003). Porém, o padrão de deposição de pólen depende do grupo de polinizador que visita as espécies de planta (Lau e Bosque, 2003).

O presente estudo constatou que há uma deficiência por parte do morfo brevistilo em *P. coriacea* em receber pólen compatível e que o fato do órgão masculino de *P. officinalis* ser mais recíproco (menor grau de inacurácia) com o estigma de *P. coriacea*, é previsível que a alta taxa de pólen quando as espécies de *Palicourea* compartilham o mesmo espaço (COF) seja consequência de uma maior precisão na altura dos órgãos interespecíficos além do maior número de visitas em *P. officinalis*, resultando em uma maior deposição de pólen ilegítimo em *P. coriacea*. Dada essa variação na altura dos órgãos é importante mencionar que o posicionamento das anteras e estigmas é o principal responsável em promover a deposição de pólen legítimo e ilegítimo nas espécies polimórficas (Stone, 1995). Além do mais, a troca de pólen entre indivíduos pode ser facilitada pela presença da hercogamia recíproca em espécies heteróstilica, fornecendo pólen dos dois morfos em diferentes partes no corpo do polinizador (Stone, 1995; Lau e Bosque, 2003; Massinga et al., 2005).

De acordo com Consolaro et al., (2009), os atributos morfológicos das duas espécies indicam que *P. coriacea* é bem adaptado a polinização por abelhas e *P. officinalis* exibe caracteres que se enquadra na polinização por beija-flor. É possível que as espécies de *Palicourea* participem do processo de polinização por competição no período em que ambas coflorescem porque compartilham mais de 90% das visitas de *B atratus* e ofertam o mesmo recurso nutritivo. Entretanto, mesmo havendo compartilhamento de polinizador as espécies de *Palicourea* divergiram o início da fenofase reprodutiva como visto nas espécies de *Aloe* (Botes et al., 2008). Os resultados ainda demonstram que *P. officinalis* pode potencialmente interferir na reprodução de *P. coriacea* visto que a inacurácia interespecífica é maior do que a intraespecífica (hipótese verdadeira). Esse é o primeiro estudo que avalia as interações entre espécies que coflorescem e que apresentam dimorfismo morfológico. Embora seja uma abordagem difícil para espécies que adotam esse tipo de caractere morfológico, o presente estudo adota novos métodos que evidenciam a presença de pólen heteroespecífico. Dessa forma,

consideramos um excelente gênero para estudos com transferência de pólen devido o alto grau de variação nos órgãos reprodutivos estar presente nas espécies do gênero e pelo fato da cofloração ser um comum nesse grupo botânico.

Em síntese, todas as hipóteses do presente estudo foram verdadeiras pelas seguintes razões: (1) *P. officinalis* compete por visitas com *P. coriacea*; (2) As espécies de planta competem pelo mesmo polinizador, além disso *Bombus atratus* é fiel a visitação floral de *P. coriacea*, e flexível nas escolhas de forrageamento na presença de *P. officinalis*; (3) A quantidade de pólen em anteras e estigma muda na presença e na ausência de *Palicourea officinalis* e por fim (5) os graus de hercogamia intraespecífica é maior do que interespecífica. Em contrapartida, rejeita-se a hipótese que (4) *Bombus atratus* transfere quantidades similares de carga polínica entre os morfos de *P. coriacea* uma vez que, a mesma não depositou cargas similares de pólen nos estigmas no morfo brevistilo e longistilo. Nesse sentido, estudos são necessários a fim de avaliar se a dinâmica de pólen em espécies heterostílicas pode interferir no isolamento reprodutivo dessas espécies. É preciso avaliar se esse padrão de deposição e remoção de pólen varia ao longo dos anos e se nas populações de *P. coriacea*.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa cedida ao primeiro autor, ao CNPq pelo auxílio cedido a H. N. Consolaro, a University of Portsmouth pelo apoio logístico, ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo apoio logístico e financeiro, ao professor Ênio Dantas e o integrantes do laboratório da Universidade Estadual da Paraíba pelo apoio logístico, aos integrantes do Laboratório de Biologia Reprodutiva da Universidade Federal de Goiás-Campus de Catalão pela ajuda nas coletas de campo e a Universidade Federal de Uberlândia pelo apoio logístico e a P. E Oliveira pelas sugestões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Armbruster WS, Edwards ME, Debevec EM. 1994.** Floral character displacement generates assemblage structure of western *Australian triggerplants* (*Stylidium*). *Ecology* **75**:315-329.
- Armbruster, W.S., & Herzig, A.L 1984.** Partitioning and sharing of pollinators by

four sympatric species of *Dalechampia* (Euphorbiaceae) in Panama. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 1-16.

- Armbruster WS, Bolstad, GH, Hansen TF, Keller B, Conti E, Pélabon C. 2017.** The measure and mismeasure of reciprocity in heterostylous flowers. *New Phytologist*.
- Adler LS, Irwin RE. 2006.** Comparison of pollen transfer dynamics by multiple floral visitors: experiments with pollen and fluorescent dye. *Annals of Botany* 97:141–150.
- Aigner PA. 2004.** Floral specialization without trade-offs: optimal corolla flare in contrasting pollination environments. *Ecology* 85: 2560–2569.
- Anderson B, Johnson SD. 2008.** The geographical mosaic of coevolution in a plant pollinator mutualism. *Evolution*. 62: 220–225.
- Barrett SCH. 2002.** The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 4: 274- 284.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. 2014.** lme4: Linear mixed-effects model Using Eigen and S4. R package version 1.1–6. Available at: <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
- Bencke CS, Morellato LPC. 2002.** Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de plantas, sua interpretação e representação. *Brazilian Journal of Botany*: 269-275.
- Bjerknes A, Totland Ø, Hegland SJ, Neilsen A. 2007.** Do alien plant invasions really affect pollination success in native plant species? *Biological Conservation* 138: 1–12.
- Botes C, Johnson SD, Cowling RA. 2008.** Coexistence of succulent tree aloes: Partitioning of bird pollinators by floral traits and flowering phenology. *Oikos* 117: 875-882.
- Brown BJ, Mitchell RJ. 2001.** Competition for pollination: Effects of pollen of a native invasive plant on seed set of a native congener. *Oecologia* 129: 43-49.
- Chittka L, Schurkens S. 2001.** Successful invasion of a floral market. *Nature*: 411-653
- Conner JK, Davis R, Rush S. 1995.** The effect of wild radish floral morphology on pollination efficiency by four taxa of pollinators. *Oecologia* 104: 234-245.
- Consolaro H, Toledo RDP, Ferreguti, RL, John H, Oliveira PE. 2009.** Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Botânica* 32: 677-689.
- Chaine I. 2010.** Why does phenology drive species distribution? *PhiloMONhical*

- Transactions of the Royal Society B* **365**: 3149-3160.
- Darwin CR. 1877.** *The different forms of flowers on plants of the same species.*
London, UK: John Murray.
- Domme B, Thompson JD, Cristini F. 1992.** Distyly in *Jasminum fruticans*. Na hypothesis for optimal pollination based on variation in intrafloral ecology. *Bulletin de la Societe Botanique de France-lettres Botaniques* **139**:223–234.
- Feldman TS, Morris WF, Wilson GW, Feldman TS. 2004.** When can two plant species facilitate each other's pollination? *Oikos* **105**: 197–207.
- Flanagan RJ, Mitchell RJ, Karron JD. 2010.** Increased relative abundance of na invasive competitor for pollination, *Lythrum salicaria*, reduces seed number in *Mimulus ringens*. *Oecologia* **164**(2): 445-454
- Frankie GW, Opler PA, Bawa KS. 1976.** Foraging behaviour of solitary bees: implications for outcrossing of a neotropical forest tree species. *The Journal of Ecology* **64**: 1049-1057.
- Fishman L, Wyatt R. 1999.** Pollinator-mediated competition, reproductive character displacement, and the evolution of selfing in *Arenaria uniflora* (Caryophyllaceae). *Evolution* **53**: 1723-1733.
- Ganders FR. 1979.** *The biology of heterostyly.* New Zealand Journal of Botany **17**:607-635.
- Gegeer RJ, Lavery TM. 2005.** Flower constancy in bumble-bees: A test of the trait variability hypothesis. *Animal Behaviour* **69**: 939-949.
- Ghazoul J. 2005.** Buzziness asusual? Questioning the global pollination crisis. *Trends in Ecology & Evolution* **20**: 367-373.
- Ghazoul J. 2006.** Floral diversity and the facilitation of pollination. *Journal of Ecology* **94**:295–304.
- Ginsberg HS. 1984.** Foraging behavior of the bees *Halictus ligatus* (Hymenoptera: Halictidae) and *Ceratina calcarata* (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of the New York Entomological Society* **92**:162–168.
- Heinrich B. 1976.** The foraging specializations of individual bumblebees. *Ecological Monographs* **46**:105–128.
- Hochkirch A, Mertes T, Rautenberg J. 2012.** Conspecific flowers of *Sinapis arvensis* are stronger competitors for pollinators than those of the invasive weed *Bunias orientalis*. *Naturwissenschaften* **99**:217–224
- Hopkins R. 2013.** Reinforcement in plants. *New Phytologist* **197**:1095-1103.
- Husband BC, Barrett SCH. 1992.** Pollinator visitation in populations of tristylous

- Eichhornia paniculata* in northeastern Brazil. *Oecologia* **89**:365-371
- Hutchinson GE. 1959.** Homage to Santa-Rosalía or why are there so many kinds of animals? *The American Naturalist* **93**:145-159.
- Keller B, Thompson JD, Conti E. 2014.** Heterostyly promotes disassortative pollination and reduces sexual interference in Darwin's primroses: evidence from experimental studies. *Functional Ecology* **28**: 1413-1425.
- Keller B, de Vos JM, Conti E. 2012.** Decrease of sexual organ reciprocity between heterostylous primrose species, with possible functional and evolutionary implications. *Annals of Botany* **110**:1233-1244.
- Kulbaba MW, Worley AC. 2014.** Patterns of pollen removal and deposition in *Polemonium brandegeei* (Polemoniaceae): the role of floral visitors, floral design and sexual interference. *Plant Biology* **16(6)**: 1087-1095.
- Lazaro A, Jakobsson A, Totland O. (2013).** How do pollinator visitation rate and seed set relate to species' floral traits and community context? *Oecologia* doi:10.1007/s00442-013- 2652-5.
- Lau P, Bosque C. 2003.** Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): Na experimental test of the disassortative pollen flow hypothesis. *Oecologia* **135**:593-600.
- Lau JA, Galloway LF. 2004.** Effects of low-efficiency pollinators on plant fitness and floral trait evolution in *Campanula americana* (Campanulaceae). *Oecologia* **141**: 577–583.
- Leibold MA, Holyoak M, Mouquet N, Amarasekare P, Chase J.M, Hoopes MF, Holt RD, Shurin JB, Law R, Tilman D, Loreau M, Gonzalez A. 2004.** The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology letters* **7(7)**: 601-613.
- Liao K, Gituru RW, Guo YH, Wang QF. 2011.** The presence of co-flowering species facilitates reproductive success of Plant *Pedicularis monbeigiana* (Orobanchaceae) through variation in bumble-bee foraging behaviour. *Annals of Botany* **108**: 877–884.
- Lopezaraiza-Mikel ME, Hayes RB, Whalley MR, Memmott J. 2007.** The impact of an alien plant on a native plant–pollinator network: an experimental approach. *Ecology Letters* **10**: 539–550
- Lloyd DG, Webb CJ. 1986.** The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany* **24**:135-162.

- Massinga PH, Johnson SD, Harder LD. 2005.** Heteromorphic incompatibility and efficiency of pollination in two distylous *Pentanisia* species (Rubiaceae). *Annals of Botany* **95**: 389-399.
- McKinney AM, Goodell K. 2011.** Plant-pollinator interactions between an invasive and native plant vary between sites with different flowering phenology. *Plant Ecology* **212**: 1025–1035.
- McGuire AD, Armbruster WS. 1991.** An experimental test for the reproductive interactions between two sequentially blooming *Saxifraga* species. *Am. J. Bot.* **78**:214–19
- Mitchell RJ, Flanagan RJ, Brown BJ, Waser NM, Karron JD. 2009.** New frontiers in competition for pollination. *Annals of Botany* **103**:1403–1413.
- Moeller DA. 2004.** Facilitative interactions among plants via shared pollinators? *Ecology* **85**: 3289-3301.
- Moles AT, Westoby M. 2003.** Latitude, seed predation and seed mass. *Journal of Biogeography* **30**(1):105-128.
- Moragues E, Traveset A. 2005.** Effect of *Carpobrotus* spp. on the pollination success of native plant species of the Balearic Islands. *Biological Conservation* **122**: 611–619.
- Morales CL, Traveset A. 2008.** Interspecific pollen transfer: Magnitude, prevalence, and consequences for plant fitness. *Critical Reviews in Plant Sciences* **27**:221–238.
- Muchhala N, Thomson JD. 2012.** Interspecific competition in pollination systems: costs to male fitness via pollen misplacement. *Functional Ecology* **26**:476-482.
- Ogilvie JE. 2014.** *Bee foraging in space and time: linking individual behaviour to pollination*. PhD Thesis, University of Toronto, Toronto, Canada.
- Ogilvie JE, Thomson JD. 2015.** Male bumble bees are important pollinators of a late-blooming plant. *Arthropod- Plant Interactions* **9**:205-213.
- Ornelas JF, Jimenez L, Gonzalez C, Hernandez A. 2004.** Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane cloud forest. I. Hummingbirds' effectiveness as pollen vectors. *American Journal of Botany* **91**:1052-1060.
- Pauw A. 2013.** Can pollination niches facilitate plant coexistence? *Trends in Ecology and Evolution* **28**:30-37.
- Pianka ER. 1973.** The structure of lizard communities. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **4**:53–74.

- Rasmussen C, Nieh JC, Biesmeijer JC. 2010.** Foraging biology of neglected bee pollinators. *Psyche*, 1–2
- Raine NE, Pierson AS, Stone GN. 2007.** Plant–pollinator interactions in a Mexican *Acacia* community. *Arthropod–Plant Interactions* **1**:101-117.
- Ree RH. 1997.** Pollen flow, fecundity, and the adaptive significance of heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica* **29**:298–308.
- Ricklefs, R.E. 2003.** A economia da natureza. 5ª Edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Sahli HF, Conner JK. 2011.** Testing for conflicting and nonadditive selection: floral adaptation to multiple pollinators through male and female fitness. *Evolution* **65**:1457-1473.
- Salzmann CC, Brown A, Schiestl FP. 2006.** Floral scent emission and pollination syndromes: evolutionary changes from food to sexual deception. *International Journal of Plant Sciences* **167**(6):1197-1204.
- Stiles FG. 1975.** Ecology, flowering phenology, and humming-bird pollination of some Costa Rican *Heliconia* species. *Ecology* **56**:285-301.
- Stiles FG. 1977.** Coadapted competitors: the flowering seasons of hummingbird pollinated plants in a tropical forest. *Science* **198**:1177-1178.
- Sieber Y, Holderegger R, Waser NM, Thomas VFD, Braun S, Erhardt A, Reyer H U, Wirth LR. 2011.** Do alpine plants facilitate each other’s pollination? Experiments at a small spatial scale. *Acta Oecology* **37**:369–374
- Stone JL, Thomson JD. 1994.** The evolution of distyly: pollen transfer in artificial flowers. *Evolution* **48**:595-1606.
- Stone JL. 1995.** Components of pollination effective-ness in *Psychotria suerrensis*, a tropical distylous shrub. *Oecologia* **107**:504-512.
- Stone GN, Willmer PG, Rowe JA. 1998.** Partitioning of pollinators during flowering in na African *Acacia* community. *Ecology* **79**:2808-2827.
- Strickler K. 1979.** Specialization and foraging efficiency of solitary bees. *Ecology* **60**: 998-1009.
- Snow, AA, Lewis PO. 1993.** Reproductive traits and male fertility in plants: empirical approaches. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **24**:331–351
- Takakura K-I, Nishida T, Matsumoto T, Nishida S. 2009.** Alien dandelion reduces the seed-set of a native congener through frequency-dependent and one sided effects. *Biological Invasions* **11**:973–981.

- Thompson JD, Cesaro AC, Arroyo J. 2012.** Morph ratio variation and sex organ reciprocity in style-dimorphic *Narcissus assoanus*. *International Journal of Plant Sciences*, **173**: 885–893.
- Totland Ø, Nielsen A, Bjercknes A-L, Ohlson M. 2006.** Effects of an exotic plant and habitat disturbance on pollinator visitation and reproduction in a boreal forest herb. *American Journal of Botany* **93**: 868–873.
- Waser NM, Fugate ML. 1986.** Pollen precedence and stigma closure: a mechanism of competition for pollination between *Delphinium nelsonii* and *Ipomopsis aggregata*. *Oecologia* **70**: 573–577.
- Wirth LR, Waser NM, Graf R, Gugerli F, Landergott U, Erhardt A, Linder HP, Holderegger R. 2011.** Effects of floral neighborhood on seed set and degree of outbreeding in a high-alpine cushion plant. *Oecologia* **167**:427–434.
- Ye ZM, Dai WK, Jin XF, Gituru RW, Wang QF, Yang CF. 2014.** Competition and facilitation among plants for pollination: can pollinator abundance shift the plant–plant interactions?. *Plant ecology* **215(1)**:3-13.

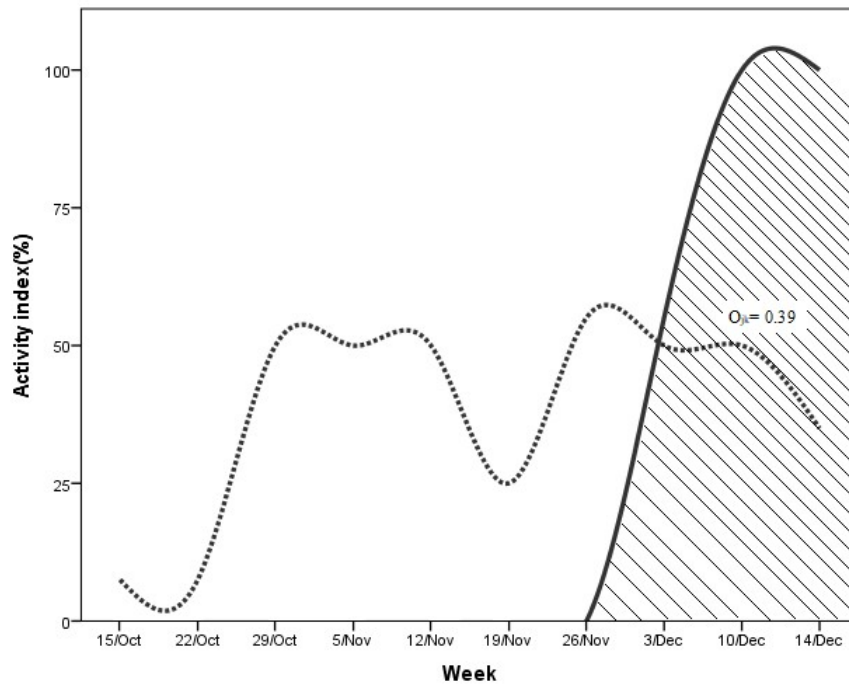


Figure 01. Fenologia de floração de *Palicourea coriacea* (linha tracejada) e *Palicourea officinalis* (linha continua) durante o período de coleta, totalizando 10 semanas.

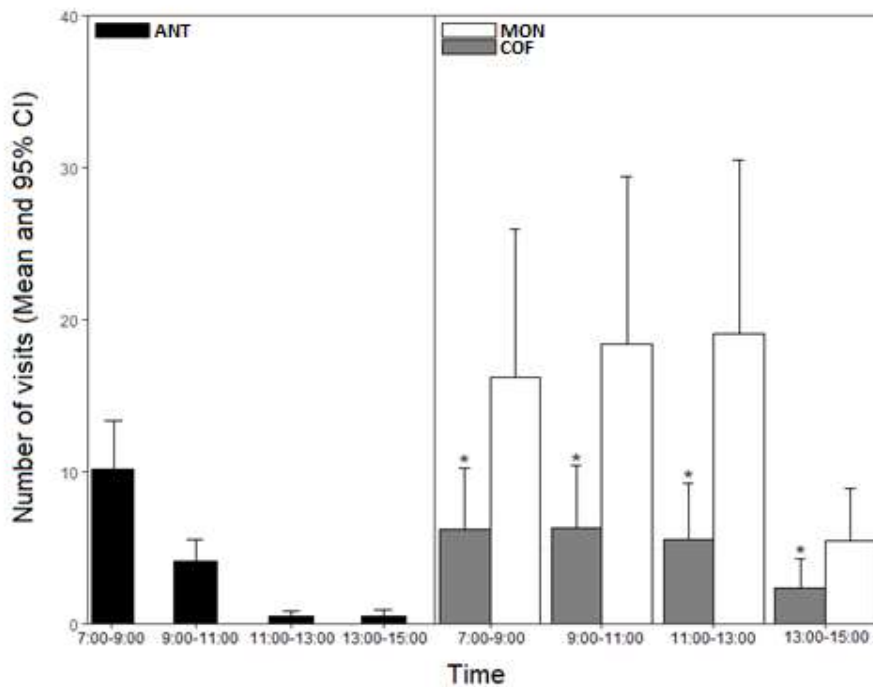


Figura 02. Número médio de visitas ao longo do dia em *Palicourea coriacea*. A cor preta representa apenas *P. coriacea* (ANT), a cor cinza e branca representa manchas mono-específicas de *P. coriacea* (MON) e co-floração (COF) respectivamente.

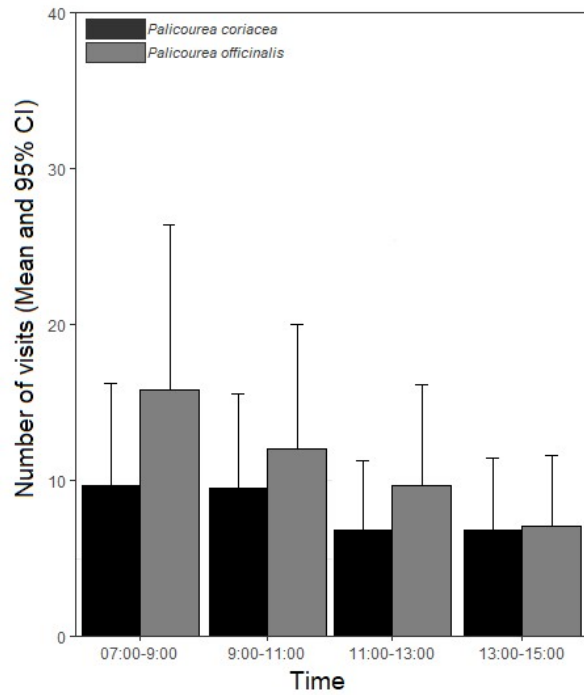


Figure 3. Número médio de visitas de *Bombus atratus* ao longo do dia em *P. coriacea* e *P. officinalis* na mancha cofloração (COF).

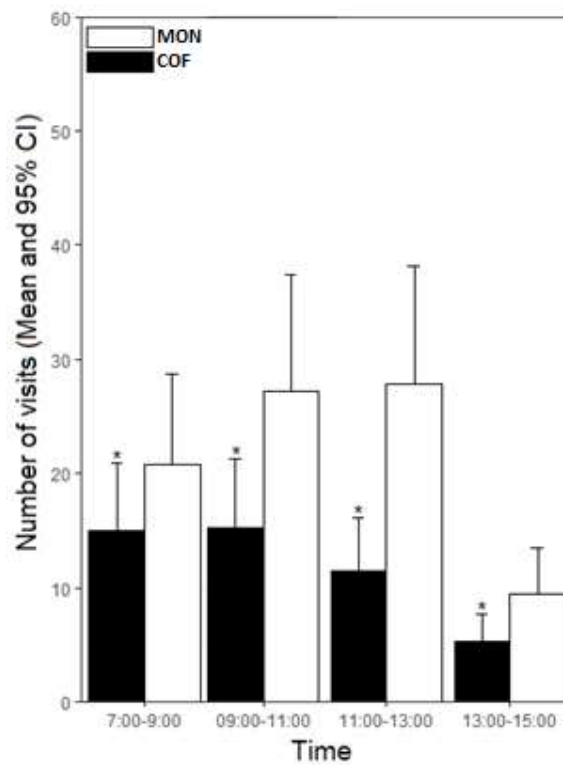


Figura 04. Número total de visitas de *Bombus atratus* no tratamento cofloração em ambas espécies de *Palicourea* (COF) e mancha solitária (MON).

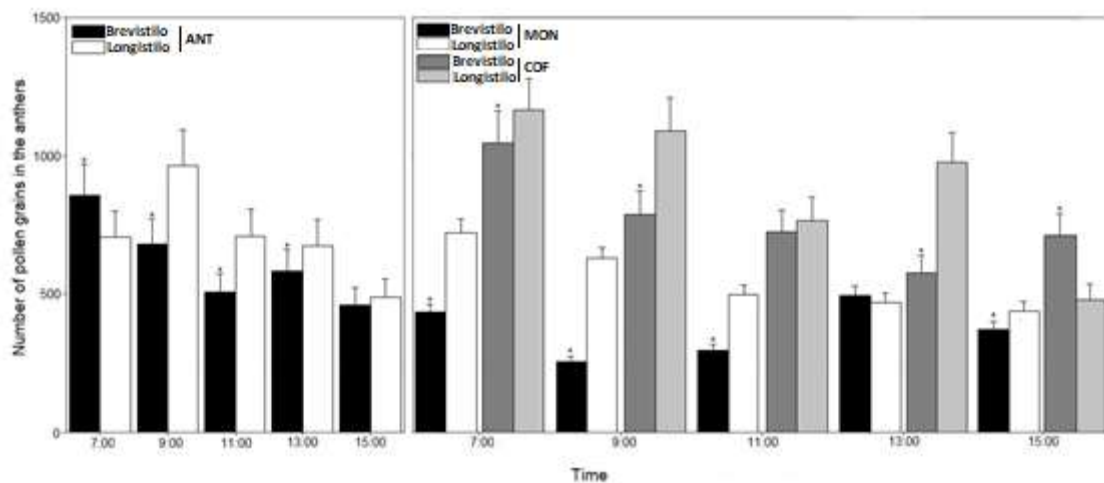


Figura 05. Taxa de liberação de pólen na antera no tratamento com apenas *Palicourea coriacea* (ANT), e no período de sobreposição de floração na mancha monoespecífica (MON) e mancha em cofloração (COF).

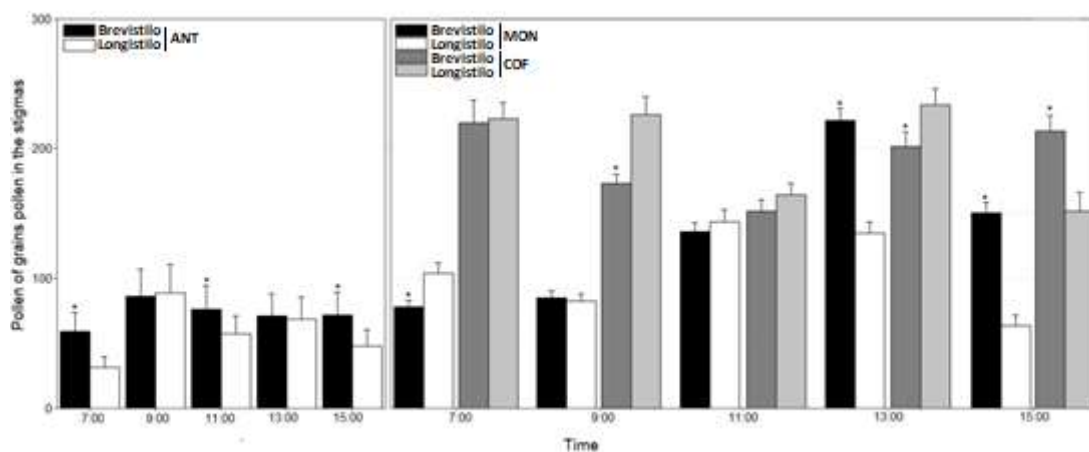


Figure 6. Taxa de liberação de pólen sobre o estigma no tratamento com apenas *Palicourea coriacea* (ANT), e no período de sobreposição de floração na mancha monoespecífica (MON) e mancha em cofloração (COF).

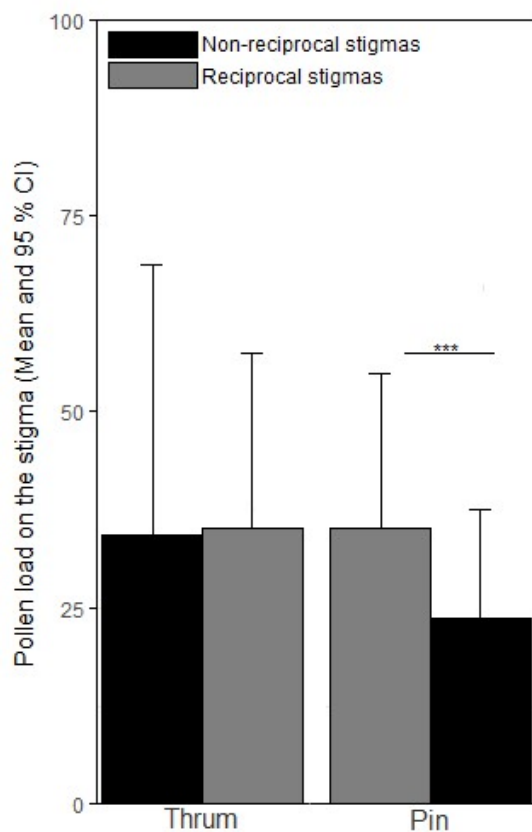


Figura 07. Média e erro padrão na quantidade de grãos de pólen no estigma dos morfos, transferidos pela abelha de *Bombus atratus* para estigmas recíprocos (Cinza) e estigmas não recíprocos (Preto) em *Palicourea coriacea*. (***)Diferença significativa. Thrum= morfo brevistilo e Pin= morfo longistilo.

Tabela 01. Desenho experimental para comparar a transferência de pólen em cada visita, realizada por *Bombus atratus* em *P. coriacea*. P=Longistilo, T=Brevistilo

Experiment	Triad	Pollen donor	First recipient flower	Secund recipient flower
Longistilo	I	P-flowers	P-flowers	T-flowers
	II	P-flowers	T-flowers	P-flowers
	III	T-flowers	T-flowers	P-flowers
Brevistilo	IV	T-flowers	P-flowers	P-flowers
	V	T-flowers	P-flowers	P-flowers

Tabela 02. GLMER mostrando o efeito do número de visitas em intervalo de observação, espécies de plantas visitadas e polinizadores em *Palicourea coriacea*. Apenas *P. coriacea* (ANT), mancha monoespecífica (MON) e cofloração (COF).

Treatment	Model	Df	Chisq	P
Only <i>P. coriacea</i>	Interval observation	3	326.88	0.001
Presence and absence <i>P. officinalis</i>	Interval observation	3	226.14	0.001
	Presence/absence – <i>P. officinalis</i>	1	287.08	0.001
	Interval observation*presence/absence	4	5.67	0.12
Coflowering – <i>P. coriacea</i> e <i>P. officinalis</i>	Interval observation	3	9.47	0.02
	Species	1	8.12	0.001
	Interval observation*Species	3	4.29	0.23
<i>Bombus</i> visits in patches with one species or two species	Interval observation	3	83.72	0.001
	treatment	1	44.84	0.001
	Interval observation* treatment	3	19.74	0.001

Tabela 03. Resultados do modelo GLMER avaliando os efeitos do morfo, horas ao longo do dia e tratamento sobre o número de grãos de pólen depositados nas anteras e nos estigmas. Apenas *P. coriacea* (ANT), mancha monoespecífica (MON) e cofloração (COF).

Treatment/Dependent variable	Model	Df	Chisq	P
ANT/Pollen in the anthers	morph	1	205.6	0.001
	time day	4	2381	0.001
	morph x time day	4	1014	0.001
ANT/Pollen on the stigmas	morph	1	110.5	0.001
	time day	4	108.5	0.001
	morph x time day	4	112.2	0.001
MON and COF/Pollen in the anthers	morph	1	32.19	0.001
	treatment	1	1499	0.001
	time day	4	612.4	0.001
	morph x treatment	1	176.4	0.001

	morph x time day	4	731.8	0.001
	treatment x time day	4	1143	0.001
	morph x treatment x time day	4	900.6	0.001
MON and COF/Pollen on the stigmas	morph	1	0.09	0.76
	treatment	1	441.67	0.001
	time day	4	107.85	0.001
	morph x treatment	1	16.14	0.15
	morph x time day	4	91.82	0.001
	treatment x time day	4	468.90	0.001
	morph x treatment x time day	4	137.16	0.001

Tabela 04. GLMER mostrando o efeito da quantidade de pólen nas anteras e nos estigmas após cada visita do morfo doador e receptor, respectivamente. Pin=Morfo longistilo e Thrum= morfo brevistilo

Treatment	Model	Df	Chisq	P
Pollen in the anthers	Morph donor	1	0.1974	0.658
Pollen on the stigmas Donor Pin	Morph receptor	1	0.002	0.95
Pollen on the stigmas Donor Thrum	Morph receptor	1	18.18	0.001**

Tabela 05. Resultados do número total de visitantes nos três tratamentos. Apenas *P. coriacea* (ANT), mancha solitária (MON) e cofloração (COF).

Treatment	Floral visitor	Total number of visits	Percentage (%)
ANT	<i>Bombus atratus</i> Franklin	824	93.6
ANT	<i>Centris</i> sp	35	3.98
ANT	Moph sp1	4	0.5
ANT	Moph sp2	13	1.48
ANT	Moph sp3	4	0.5
MON	<i>Bombus atractus</i> Franklin	1604	99.1
MON	<i>Centris</i> sp	5	0.4
MON	Lepdoptera	8	0.5
MON	<i>Toxomerus</i> sp	1	0.06
COF	<i>Bombus atractus</i> Franklin	872	91.8
COF	<i>Centris</i> sp	3	0.3
COF	Halictidae sp1	3	0.3

COF	<i>Colibri serrirostris</i> (Vieillot, 1816)	66	6.95
COF	<i>Phoebis</i> sp	1	0.1
COF	Vespidae sp1	5	0.5

6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nessa tese demonstram que *Palicourea coriacea* pode ser considerada uma espécie distílica mesmo com uma variação intrafloral alta, característica comum no gênero. A atribuição da distílica em *P. coriacea* se deve ao alto grau de hercogamia recíproca quando comparada com as outras espécies cogenéricas. Devido ao estudo ter encontrado morfos atípicos em algumas populações, não se tem informações do estágio evolutivo em *P. coriacea*, visto que, as espécies do mesmo gênero apresentam dimorfismo típicos e atípicos. Essa variação intrafloral é uma condição para o gênero independente do gradiente geográfico, sendo um excelente grupo para estudos funcionais e evolutivos. O motivo das variações ainda não está bem claro, porém acreditamos que as alterações nos graus da inacurácia esteja aliada a guilda de polinizadores locais de cada área, uma vez que, os graus da inacurácia diferenciam mais entre populações do que entre espécies no gênero *Palicourea*. Com isso, os dados do primeiro capítulo fornecem informações relevantes para estudos futuros, além de permitirem conclusões a respeito de um gênero que apresenta vários registros atípicos.

No geral, os resultados apresentados fornecem valiosas informações referentes ao sistema distílico e das interações negativas e positivas entre espécies dimórficas que coflorescem e que tipicamente são dependentes do polinizador para reprodução. O segundo capítulo constatou que espécies que coexistem e florescem juntas são capazes de apresentar estratégias para minimizar os prejuízos na deposição de pólen heterospecífica como o ajuste no comportamento da floração. Mesmo havendo compartilhamento de polinizador as espécies de *Palicourea* divergiram o início da fenofase reprodutiva podendo assim reduzir a deposição de pólen da espécie concorrente e consequentemente obtendo mais chances no aumento do sucesso reprodutivo. Diante da competição por polinizador, a presença de *P. officinalis* gera um cenário de interações assimétricas dentro da área, atraindo mais polinizadores em manchas monoespecíficas de *P. coriacea* e competindo por visitas em manchas onde ambas as espécies de *Palicourea* compartilham do mesmo espaço. Em síntese, os resultados apresentados nos capítulos chamam a atenção para estudos clássicos da distílica e as interações ecológicas entre espécies que apresentam esse caractere morfológico e coflorescem, visto que são espécies que na grande maioria apresentam um sistema clássico que depende do polinizador para se reproduzir. No entanto, são necessários estudos que avaliem as causas das variações morfológicas encontradas em *Palicourea coriacea* e por fim investigações com ecologia

cognitiva que avaliem a percepção de cor de abelhas e beija-flores associado a diferentes taxas de visitação e comportamento nas espécies que coflorescem do presente estudo.

7.0 ANEXOS

Normas para publicação no periódico Plant Biology

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.

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 papers (maximum 9000 words)
 2. Problem-oriented short research papers (maximum five typeset pages)
 3. Concise review articles
 4. Acute views, i.e., comments on actual problems and provocative opinion articles.
- Purely descriptive papers will not be accepted. The Editors welcome contributions from all over the world.

Effective with the 2015 volume, this journal will be published in an online-only format. Print subscription and single issue sales are available from Wiley's Print-on-Demand Partner. To order online click through to the ordering portal from the journal's subscribe and renew page on Wiley Online Library.

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 or by telephone ++49(0)761/203-8300. 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-Blackwell'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 papers 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 papers (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.

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

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.

New: Pre-submission English-language editing

Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscripts professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Length of Papers

Papers should not exceed 8 printed pages or 9,000 words. 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. Appendices will be published as Supporting Information rather than in the main text. References: About 40 to 50 references usually fill one printed page.

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. Invited and review articles are excluded from this rule. Waiving of page charge will not be accepted.

Arrangement

Research papers

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, and 3 to 7 keywords.

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. 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.

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.

COFyright

Authors will be required to assign COFyright of their paper to the German Society for Plant Sciences, Royal Botanical Society of the Netherlands and Blackwell Publishing.

COFyright assignment is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless COFyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown COFyright 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 hardCOFy 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.

7.2 Normas para publicação no periódico *Annals of Botany*

INTRODUCTION

SCOFe of the journal

Annals of Botany is published for the Annals of Botany Company by Oxford University Press. Experimental, theoretical and applied papers on all aspects of plant science are welcome. The submitted manuscript or its essential content must not have been published previously or be under consideration for publication elsewhere. To merit publication in Annals of Botany, contributions should be substantial, written in clear English and combine originality of content with potential general interest. Submission of manuscripts that report small incremental advances or are of geographically local interest only is discouraged unless the implications of the findings are wide-reaching. Agronomic papers are expected to contain a substantial amount of basic plant biology. In general, a paper is unlikely to be accepted unless the referees and editors involved in its evaluation are enthusiastic about the science. The Covering Letter is an essential part of all submissions. It should include an ~60 word summary of the scientific strengths of the paper that the author(s) believe qualify it for consideration by Annals of Botany .

Language editing

If English is not your first language, you may wish to have your manuscript edited for language before submitting it. This is not a mandatory step, but may help to ensure that the academic content of your paper is fully understood by journal editors and reviewers. Language editing does not guarantee that your manuscript will be accepted for publication. There are many specialist language editing services available and you can find these easily by searching online. Authors are liable for all costs associated with such services.

Charges

Authors pay no fees or page charges unless electing for our Open Access scheme (see below for details). The corresponding author receives a free COFy of the issue of the Journal in which their paper appears and a unique URL that gives access to a PDF (Portable Document Format) file of their article. Offprints can be ordered using the Oxford Journals Authors Services site. Orders from the UK will be subject to the current UK VAT charge. For orders from elsewhere in the EU you or your institution should account for VAT by way of a reverse charge. Please provide us with your or your institution's VAT number. Colour photographs and graphics are also printed without charge where their use enhances scientific content or clarity.

Open Access

Annals of Botany authors have the option to publish their paper under the Oxford Open initiative; whereby, for a charge, their paper will be made freely available online immediately upon publication. Annals of Botany offers extremely competitive rates for Open Access publication, supported by its not-for-profit status aiming to promote botanical science. Corresponding authors/institutions can choose to pay a subsidized rate of £1050/ \$1700 / €1400, and open access is further discounted or free for developing countries (click here for a list of qualifying countries). After your manuscript is accepted the corresponding author will be required to accept a mandatory licence to publish agreement. As part of the licensing process you will be asked to indicate whether or not you wish to pay for open access. If you do not select the open access option, your paper will be published with standard subscription-based access and you will not be charged.

Oxford Open articles are published under Creative Commons licences. Authors publishing in Annals of Botany can use the following Creative Commons licences for their articles:

Creative Commons Attribution licence (CC BY)

Please click here for more information about the Creative Commons licences.

If you choose the Open Access option you can pay the Open Access charges using our Author Services site. This will enable you to pay online with a credit/debit card, or request an invoice by email or post. Open access charges can be viewed here in detail.

Orders from the UK will be subject to the current UK VAT charge. For orders from the rest of the European Union, OUP will assume that the service is provided for business purposes. Please provide a VAT number for yourself or your institution and ensure you account for your own local VAT correctly.

Types of article

Primary research papers ('ORIGINAL ARTICLES') and 'TECHNICAL ARTICLES' should not normally exceed ten printed pages. A 'REVIEW' submitted speculatively should generally have fewer than 25 printed pages. Opinion papers ('VIEWPOINT') and 'RESEARCH IN CONTEXT' articles are also welcome: the latter category is for papers

that combine a review/overview of a subject area with original research that moves the topic forward. 'INVITED REVIEWS' (generally up to 25 pages) and 'BOTANICAL BRIEFINGS' (up to 6 pages) are published by invitation only. Note that with the exception of Botanical Briefings, which are intended as short reviews, the number of pages suggested here is a guideline: in all cases the length of an article should be appropriate to its scientific content. The journal also publishes book reviews, but these are by invitation only (see Publishers' Books for Review).

Information about reviews

As with all papers for *Annals of Botany*, reviews should carry an important message. Articles for reviews might fit any of the following appropriate article types: Reviews, Viewpoints, Botanical Briefings and Research-in-Context (see below for a brief outline of each type). We ask you to write an article that is focussed and accessible for research, teaching and information across our readership of professional botanists, and normally include intellectual and practical implications, maybe suggesting novel research directions. We are not prescriptive and there will be a different balance and length in each review – with Viewpoints more opinionated but nevertheless rigorous, and reviews approaching meta-analysis, reanalysis of data or integration of previous work are encouraged. Applied, analytical, policy-driven and overview papers are also welcome.

Reviews should be novel, rigorous and "make a difference" to plant science. We want you to use your expertise and judgement to discuss new work and ideas, develop new hypotheses, expand and support models, or explain what is important and the implications and future for a field. Each paper cited should carry an important message. We are not looking for blow-by-blow and exhaustive coverage of a large field (as would be the case for e.g. *Annual Reviews* or *Current Plant Biology*). The articles must have informative titles and abstracts, will invariably be illustrated, normally including one or more conceptual/summary figures. Colour will be free, all articles will be reviewed as appropriate for their content, and will be freely downloadable without subscription.

Reviews should place the subject in context, include the most up-to-date references available and add significantly to previous reviews in the topic with a critical overview of the topic. A review will move forward research in the topic. They are generally up to

around 12,000 words in length, or typically 40 to 60 manuscript pages, and must include appropriate figures to help illustrate the topic.

Research in Context should combine a review/overview of a subject area with original research that moves the topic forward; i.e. it is a hybrid of review/research papers. Typically it contains an extended Introduction that provides a general overview of the subject area before incorporating new research results (potentially even meta-analyses) that move the subject forward, with a Discussion that may propose general models, discuss impact of the research and future opportunities. Research in Context papers are typically the length of a long “normal” research paper, up to about 10,000 words and should be illustrated.

Viewpoints should present clear, concise and logical arguments supporting the authors’ opinions, and in doing so help stimulate discussions within the topic. A typically Viewpoint would be about 4,000 words in length and should include at least one figure (e.g. a schematic to illustrate the point being made).

Botanical Briefings are concise, perhaps more specialized reviews and usually cover topical issues, maybe involving some controversy. They are much shorter in length (4000–6000 words) and normally have a limit of 40 references.

Summary of submission processes

Submission management and evaluation of submitted manuscripts will involve the Journal's online manuscript submission system. The manuscript text should be prepared in English (see PREPARING THE ARTICLE FILE below for details) and submitted online starting from our login page. Figures, tables and other types of content should be organized into separate files for submission (see PREPARING TABLE and FIGURE FILES , SUPPLEMENTARY INFORMATION FILES and VIDEO FILES below for details). If you are using the online submission system for the first time please go to the login page and generate a login name and password after clicking on the “ First time authors only should register here ” link. If you are already registered but need to be reminded of your login name or password please go to the login page and click on “ Unknown/Forgotten password?”. There is extensive guidance available throughout the submission process. To make use of this guidance please click on the “Author

Instructions” link or the “Tips” link situated at the top of every screen. In addition, there are frequent context-sensitive help points throughout the site that can be opened by clicking on the following symbol ?.

If you are unable to access our web-based submission system, please contact the Editorial Office (e-mail: office@annbot.com) for alternative methods of submitting your paper. The postal address is Annals of Botany Editorial Office, Department of Plant Sciences, University of Oxford, South Parks Road, Oxford, OX1 3RB, UK.

Preparing a covering letter

Each submission should be accompanied by a Covering Letter formatted in MS Word (file type DOC) or in Rich Text Format (file type RTF). The letter should include contact details of the corresponding author, the title and authorship of the paper, and should state if the paper is a first submission, revision or a resubmission. It must also include an ~60 word summary of the scientific strengths of the paper that the author(s) believe qualify it for consideration by Annals of Botany . The manuscript reference number must be given if the paper is a revision or resubmission. If the paper is a revised or resubmitted manuscript, the letter should explain what changes have been made to the manuscript and where changes requested by the Handling Editor and referees have not been carried out. Any other information to which authors wish to draw the Chief Editor’s attention should also be included in this letter.

PUBLICATION ETHICS

Authors should observe high standards with respect to publication ethics. The Journal is a member of the Committee on Publication Ethics (COPE). Any cases of ethical misconduct are treated very seriously and will be dealt with in accordance with the COPE guidelines. Further information about OUP’s ethical policies followed by Annals of Botany is available [here](#) . All work submitted to Annals of Botany should be novel, rigorous and substantial, and the Editors may make plagiarism checks at any time after submission.

The corresponding author agrees by submission of a manuscript that 1) the work is free of plagiarism and is not under consideration for publication elsewhere; 2) all authors have agreed to publication in Annals of Botany ; 3) all those contributing substantial ideas and

work have been appropriately acknowledged or given co-authorship; 4) all addresses and institutional affiliations are complete and correct; 5) all national laws relating to the research have been complied with; 6) funding sources and conflicts of interest have been appropriately acknowledged; and 7) authorization to publish all parts of the submission from employers, intellectual property or COFyright holders, funders, and others is given. A published paper subsequently found not to have fulfilled all of these criteria may be retracted or, at the journal's sole discretion, a correction may be published. We reserve the right to charge authors the full original cost of publishing any subsequently retracted paper, or the cost of publishing any correction.

PREPARING THE ARTICLE FILE

(Always consult a recent issue of *Annals of Botany* for layout and style)

Text should be typed using size 12 Times New Roman or Courier, double-spaced throughout and with an approx. 25 mm margin. All pages should be numbered sequentially. Each line of the text should also be numbered, with the top line of each page being line 1. The article file should be in PC-compatible Microsoft Word - file type DOC [please make sure the "Language" is "English (U.K)" via Tools → Language → Set Language]. RTF files are also acceptable. Please do not use the Windows Vista DOCX format: if you have created the text in this format, please save the files as RTF before submitting them. Please do not submit PDFs, desktop publishing files or LaTeX files. The article file should include a list of any figure legends but exclude any figures themselves – these should be submitted separately, with each figure in a separate file. Tables should be included at the end of the article file, in a Word format and not embedded as an image/picture. For more details see below under PREPARING TABLE and FIGURE FILES, SUPPLEMENTARY INFORMATION FILES AND VIDEO FILES .

It is NOT journal style to have footnotes within articles. Any such notes must be incorporated into the main text, for example within brackets or as a separate paragraph.

The first page should state the type of article (e.g. Original Article, Technical Article) and provide a concise and informative full title followed by the names of all authors. Where necessary, each name should be followed by an identifying superscript number (1, 2, 3 etc.) associated with the appropriate institutional address to be entered further down the

page. For papers with more than one author, the corresponding author's name should be followed by a superscript asterisk*. The institutional address(es) of each author should be listed next, each address being preceded by the relevant superscript number where appropriate. A running title of not more than 75 characters, including spaces, should also be provided, followed by the e-mail address of the corresponding author. Please follow the layout used for the first page of papers published in *Annals of Botany* .

The second page should contain a structured Abstract not exceeding 300 words made up of bulleted headings. For 'ORIGINAL ARTICLES' these heading will normally be as follows:

Background and Aims

Methods

Key Results

Conclusions

Alternative bulleted headings, such as ' Background ', ' SCOFe ' and ' Conclusions ', are also acceptable for 'REVIEWS', 'INVITED REVIEWS', 'BOTANICAL BRIEFINGS', 'TECHNICAL ARTICLES' papers and 'VIEWPOINT' papers.

The Abstract should be followed by between three and 12 Key words that include the complete botanical name(s) of any relevant plant material. If many species are involved, species groups should be listed instead. Note that essential words in the title should be repeated in the key words since these, rather than the title, are used in some electronic searches. Title , Abstract and Key words should be self-explanatory without reference to the remainder of the paper.

The third and subsequent pages should comprise the remaining contents of the article text. 'ORIGINAL ARTICLES' will usually have the structure INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, ACKNOWLEDGEMENTS and LITERATURE CITED followed by a list of captions to any figures.

The RESULTS section should not include extensive discussion and data should not be repeated in both graphical and tabular form. The DISCUSSION section should avoid extensive repetition of the RESULTS and must finish with some conclusions.

Abbreviations are discouraged except for units of measurement, standard chemical symbols (e.g. S, Na), names of chemicals (e.g. ATP, Mes, Hepes, NaCl, O₂), procedures (e.g. PCR, PAGE, RFLP), molecular terminology (e.g. bp, SDS) or statistical terms (e.g. ANOVA, s.d., s.e., n, F, t-test and r²) where these are in general use. Other abbreviations should be spelled out at first mention and all terms must be written out in full when used to start a sentence. Abbreviations of scientific terms should not be followed by a full stop. Use the minus index to indicate 'per' (e.g. m⁻³, L⁻¹, h⁻¹) except in such cases as 'per plant' or 'per pot'. If you decide that a list of abbreviations would help the reader, this should be included as an Appendix.

Units of Measurement. Use the Systéme international d'unités (SI) wherever possible. If non-SI units have to be used, the SI equivalent should be added in parentheses at first mention. For units of volume, expressions based on the cubic metre (e.g. 5 × 10⁻⁹ m³, 5 × 10⁻⁶ m³ or 5 × 10⁻³ m³) or the litre (e.g. 5 µL, 5 mL, 5 L) are acceptable, but one or other system should be used consistently throughout the manuscript. Typical expressions of concentrations might be 5 mmol m⁻³, 5 µM (for 5 µmol L⁻¹), or 25 mg L⁻¹. The Dalton (Da), or more conveniently the kDa, is a permitted non-SI unit of protein mass.

Names of plants must be written out in full (Genus, species) in the abstract and again in the main text for every organism at first mention (but the genus is only needed for the first species in a list within the same genus, e.g. *Lolium annuum*, *L. arenarium*). The authority (e.g. L., Mill., Benth.) is not required unless it is controversial. Guidance for naming plants correctly is given in *The International Plant Names Index* and in *The Plant Book: a Portable Dictionary of the Vascular Plants* (1997) by D.J. Mabberley (Cambridge: Cambridge University Press. ISBN 0521-414210-0). After first mention, the generic name may be abbreviated to its initial (e.g. *A. thaliana*) except where its use causes confusion.

Any cultivar or variety should be added to the full scientific name e.g. *Solanum lycopersicum* 'MoneyMaker' following the appropriate international code of practice. For guidance, refer to the ISHS International Code of Nomenclature for Cultivated Plants (2004) edited by C.D. Brickell, B. R. Baum, W. L. A. Hetterscheid, A. C. Leslie, J. McNeill, P. Trehane, F. Vrugtman, J. H. Wiersema (ISBN 3-906166-16-3).

Once defined in full, plants may also be referred to using vernacular or quasi-scientific names without italics or uppercase letters (e.g. arabis, dahlia, chrysanthemum, rumex, soybean, tomato). This is often more convenient.

Items of Specialized Equipment mentioned in MATERIALS AND METHODS should be accompanied by details of the model, manufacturer, and city and country of origin.

Numbers up to and including ten should be written out unless they are measurements. All numbers above ten should be in numerals except at the start of sentences. Dates should be in the form of 10 Jan. 1999, and Clock Time in the form of 1600 h.

Mathematical equations must be in proper symbolic form; word equations are not acceptable. Each quantity should be defined with a unique single character or symbol together with a descriptive subscript if necessary. Each subscript should also be a single character if possible, but a short word is permissible. For example, a relationship between plant dry mass and fresh mass should appear as $M_d = 0.006 M_f 1.461$, where M_d is plant dry mass and M_f is plant fresh mass; and not as $DM = 0.006 FM 1.461$.

The meaning of terms used in equations should be explained when they first appear. Standard conventions for use of italics only for variables should be followed: normal (Roman) font should be used for letters that are identifiers. Thus in the above example, M is the variable quantity of mass, the subscripts d and f are identifiers for dry and fresh respectively.

Special note regarding 'Equation Editor' and other software for presentation of mathematics. Symbols and equations that are imported into Word documents as embedded objects from other software packages are generally incompatible with typesetting software and have to be re-keyed as part of the proof-making process. It is

therefore strongly advisable to type symbols and equations directly into MS Word wherever possible. Importing from other software should ideally be confined to situations where it is essential, such as two-line equations (i.e. where numerators and denominators cannot be set clearly on a single line using '/') and to symbols that are not available in Word fonts. This will minimize the risk of errors associated with rekeying by COFyeditors.

Summary statistics should be accompanied by the number of replicates and a measure of variation such as standard error or least significance difference. Analysis of variance is often appropriate where several treatments are involved. Presentation of an abridged ANOVA table is permissible when its use illustrates critical features of the experiment.

Chemical, biochemical and molecular biological nomenclature should be based on rules of the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) and the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) . Chapter 16 of *Scientific Style and Format. The CBE Manual for Authors, Editors, and Publishers* 6th edn., by Edward J. Huth (Cambridge: Cambridge University Press. ISBN 0-521-47154-0) gives guidelines.

Sequence information. Before novel sequences for proteins or nucleotides can be published, authors are required to deposit their data with one of the principal databases comprising the International Nucleotide Sequence Database Collaboration: EMBL Nucleotide Sequence Database , GenBank , or the DNA Data Bank of Japan and to include an accession number in the paper. Sequence matrices should only be included if alignment information is critical to the message of the paper. Such matrices can be in colour but should not occupy more than one printed page. Larger matrices will only be printed by special agreement but may more readily be published electronically as Supplementary Information (see below).

Gene nomenclature. Species-specific rules on plant gene nomenclature are available for: maize ; rice ; wheat and arabidopsis .

Otherwise, *Annals of Botany* adopts the following conventions for abbreviations: each gene abbreviation is preceded by letters identifying the species of origin. Lower-case

italics should be used for mutant genes (e.g. *Rp-etr1*); upper-case italics (e.g. *Le-ACO1*) for wild-type genes; upright lower-case for proteins of mutated genes (e.g. *Le-adh1*); and upright upper-case for proteins of wild-type genes (e.g. *At-MYB2*). It may often be helpful to readers if the names of genes or gene families are spelled out in full at first mention.

Citations in the text. These should take the form of Felle (2005) or Jacobsen and Forbes (1999) or (Williamson and Watanabe, 1987; Rodrigues, 2002 a , b) and be ordered chronologically. Papers by three or more authors, even on first mention, should be abbreviated to the name of the first author followed by et al. (e.g. Zhang et al ., 2005). If two different authors have the same last name, give their initials (e.g. NH Kawano, 2003) to avoid confusion. Only refer to papers as 'in press' if they have been accepted for publication in a named journal, otherwise use the terms 'unpubl. res.', giving the initials and location of the person concerned. (e.g. H Gautier, INRA, Lusignan, France, unpubl. res.) or 'pers. comm.' (e.g. WT Jones, University of Oxford, UK, 'pers. comm.')

The LITERATURE CITED should be arranged alphabetically based on the surname of the first or sole author. Where the same sole author or same first author has two or more papers listed, these papers should be grouped in year order. Where such an author has more than one paper in the same year , these should be ordered with single authored papers first followed by two-author papers (ordered first alphabetically based on the second author's surname, then by year) , and then any three-or-more-author papers (in year order only). Italicized letters ' a ', ' b ', ' c ', etc., should be added to the date of papers with the same first authorship and year.

For papers with six authors or fewer, please give the names of all the authors. For papers with seven authors or more, please give the names of the first three authors only, followed by et al . Each entry must conform to one of the following styles according to the type of publication.

Books

Öpik H, Rolfe S. 2005. The physiology of flowering plants. Physicochemical and environmental plant physiology , 4th edn. Cambridge: Cambridge University Press.

Chapters in books

Scandalios JG. 2001. Molecular responses to oxidative stress. In: Hawkesford MJ, Buchner P, eds. Molecular analysis of plant adaptation to the environment . Dordrecht: Kluwer, 181-208.

Research papers

Popper ZA, Fry SC. 2003 . Primary cell wall composition of bryophytes and charophytes. *Annals of Botany* 91 : 1–12.

Papers published online ahead of print

Forster MA, Ladd B, Bonser SP. 2011. Optimal allocation of resources in response to shading and neighbours in the heteroblastic species, *Acacia implexa*. *Annals of Botany* , in press. doi:10.1093/aob/mcq228.

NB include the doi number: a search for the doi will always be directed to the most recent version, so the reader will be able to find the final published paper as soon as it appears.

Online-only journals

Aizen MA, Morales C, Morales JM. 2008. Invasive mutualists erode native pollination webs. *PloS Biology* 6: e31. doi:10.1371/journal.pbio.0060031.

NB include the doi number after the volume and article number.

Theses

Tholen D. 2005. Growth and photosynthesis in ethylene-insensitive plants . PhD Thesis, University of Utrecht, The Netherlands.

Anonymous sources

Anonymous . Year. Title of booklet, leaflet, report, etc. City: Publisher or other source, Country.

References to websites should be structured as: Author(s) name, author(s) initial(s). year. Full title of article . Full URL. Date of last successful access (e.g. 12 Jan. 2003)

Acknowledgements. In the ACKNOWLEDGEMENTS, please be brief. 'We thank . . .' (not 'The present authors would like to express their thanks to . . .').

Funding information. Details of all funding sources for the work in question should be given in a separate section entitled 'Funding'. This should appear before the 'Acknowledgements' section.

The following rules should be followed:

The sentence should begin: 'This work was supported by ...'

The full official funding agency name should be given, i.e. 'the National Cancer Institute at the National Institutes of Health' or simply 'National Institutes of Health' not 'NCI' (one of the 27 subinstitutions) or 'NCI at NIH' (full RIN-approved list of UK funding agencies)

Grant numbers should be complete and accurate and provided in brackets as follows: '[grant number ABX CDXXXXXX]'

Multiple grant numbers should be separated by a comma as follows: '[grant numbers ABX CDXXXXXX, EFX GHXXXXXX]'

Agencies should be separated by a semi-colon (plus 'and' before the last funding agency)

Where individuals need to be specified for certain sources of funding the following text should be added after the relevant agency or grant number 'to [author initials]'

An example is given here: 'This work was supported by the National Institutes of Health [P50 CA098252 and CA118790 to R.B.S.R.] and the Alcohol & Education Research Council [HFY GR667789].

Oxford Journals will deposit all NIH-funded articles in PubMed Central. See http://www.oxfordjournals.org/for_authors/repositories.html for details. Authors must ensure that manuscripts are clearly indicated as NIH-funded using the guidelines above.

Crossref Funding Data Registry

In order to meet your funding requirements authors are required to name their funding sources, or state if there are none, during the submission process. For further information on this process or to find out more about the CHORUS initiative please click here .

Appendix.

If elaborate use is made of units, symbols and abbreviations, or a detailed explanation of one facet of the paper seems in order, further details may be included in a separate APPENDIX placed after the LITERATURE CITED.

For more detail and information on types of files required for text, graphics and tables etc., please see the next section.

PREPARING TABLES, FIGURE FILES, SUPPLEMENTARY INFORMATION FILES AND VIDEOS

Each figure, video and set of supplementary information should be prepared as a separate file on your computer in preparation for online submission. Tables should be included at the end of the Word file containing the main text (see below). Towards the bottom of the first submission screen of the online submission system, you should enter the appropriate number of files you have in each category. This creates the spaces (boxes) that will accommodate the files when they are uploaded later. The files are categorized as 'Colour Figures', 'Black and White Figures', 'Supplemental Material' and 'Video'.

Tables. The best guide for laying out tables and diagrams are papers in a recent issue of *Annals of Botany* . Tables should be placed at the end of the main text file after the Literature Cited, and include a complete caption above the table and be numbered Table 1, Table 2 etc. according to the order in which they are first mentioned in the text. When preparing tables, adopt the 'Tables' set-up in MS Word, using one cell for each datum cluster (e.g. 12.2 ± 1.65) and avoid the use of the 'return' key. If the tables have been prepared in MS Excel, please paste them into the Word document as text, not as an object: i.e. it should be possible in Word to select and edit the text within the table.

Figures. All images (line diagrams, drawings, graphs, photographs, plates) are considered 'Figures'. Each figure should be in a separate file and be numbered (Fig. 1, Fig. 2 etc.) in

the order they are first mentioned in the text. Group related graphics into a single figure and label A, B, C, etc. following the style in recent issues of the Journal. Images (micrographs, maps, plants) should have internal scale bars. Colour images are encouraged and printed without charge where they enhance the clarity of the scientific information. Line diagrams are normally black on white but may be in colour where this enhances clarity. Consider that some readers will use black-and-white printouts or have reduced colour vision. Height and width of figures should be chosen to not exceed 23cm in height and for either single (8.4 cm wide) or double (up to 17.3 cm wide) column reproduction. Graphs and diagrams are often redrawn and should be inspected carefully in proofs.

We suggest supplying figures for first submissions as PowerPoint PPT (drawings) or JPG (images) files at 300 dpi (= 120 pixels/cm) and 8.4 or 17.3cm wide. Ensure the PDF created for review is less than 5MB in size, the points you make are clearly visible in the figures, and that all pages in the PDF are approximately the same width; if not, please revise figures and recreate the PDF. Reviewers may not be able to download very large PDFs nor wish to resize pages. After review of your manuscript, and provisional acceptance, please submit original figures in non-compressed formats: EPS, AI, or PPT files are suitable for diagrams, and TIF, PSD or a low-compression JPG at 600dpi or 300 dpi at print size for photographic or other images. Please do not supply photographic images as PowerPoint files nor save PowerPoint files in TIF or JPG format as these are generally of poor resolution. If figures are drawn in PowerPoint and contain imported images, then please supply the image files separately as clearly labelled supplementary files. PDF files are not acceptable for reproduction. JPG files should not be repeatedly saved as this reduces quality.

Large amounts of additional information can be submitted for publication electronically as Supplementary Information provided that it is not essential for a basic understanding of the main paper. Supplementary material will be refereed along with the core paper. At appropriate positions in the main text authors should indicate what details are being made available, followed by the words [Supplementary Information] in bold and between square brackets. The online submission system provides space for supplementary information to be uploaded in “Supplemental Material” files. The appropriate number of these types of file can be selected towards the bottom of the first submission screen.

Similarly, if you are including a video you should enter [**Supplementary Information - Video**] in bold and between square brackets at the appropriate place(s) in the text. A video can be uploaded after selecting a “Video” file on the first submission screen. The movie should be created in a widely available program such as Windows MediaPlayer. A short paragraph describing the contents of any Supplementary Information or Video should also be inserted in the main text immediately before ACKNOWLEDGEMENTS.

Reproducing material from other published work. If material from work already published elsewhere is included in the article (for example, a figure used to illustrate a review) then permission must be obtained in advance from the COFyright holder. Even before you submit your article to the journal, please ensure you that you explore the COFyright situation for the material you wish to use, identify any relevant COFyright holders, and establish whether you are likely to be able to obtain permissions from them. When seeking permission to reproduce any kind of third party material, please request the following: (1) non-exclusive rights to reproduce the material in the specified article and journal published by Oxford Journals, a division of Oxford University Press; (2) print and electronic rights, ideally for use in any form or medium. If not possible to secure such broad-ranging rights, we do need the right to make the content available online; (3) the right to use the material for the life of the work (no time-restrictions such as one year etc on the licence granted); (4) world-wide English-language rights; if rights for all languages can be secured, this is preferable; and (5) the right to use images with a resolution of 300 dpi in the PDF version of the journal, or 72 dpi in the HTML version. Please contact the Annals of Botany Editorial Office if you have any queries regarding obtaining permission to reproduce material that may be under COFyright.

Third-Party Content in Open Access papers. If you will be publishing your paper under an Open Access licence but it contains material for which you do not have Open Access re-use permissions, please state this clearly by supplying the following credit line alongside the material:

Title of content

Author, Original publication, year of original publication, by permission of [rights holder]

This image/content is not covered by the terms of the Creative Commons licence of this publication. For permission to reuse, please contact the rights holder.

THE REVIEW PROCESS

The corresponding author and all co-authors receive an acknowledgment of receipt of the manuscript and a manuscript reference number by e-mail. The corresponding author is informed when a Handling Editor has been assigned to the paper. Manuscripts considered suitable for peer review are sent to at least two outside referees. We give referees a target of two weeks for the return of their reports. Currently less than 25 % of submitted papers are accepted. Authors are asked to revise provisionally accepted articles within four weeks. To view the make-up of the Editorial Board click on View full editorial board .

FORMATTING AND SUBMITTING A REVISED PAPER

The technical requirements for the Article, Table and Figure Files etc. are as described above for the first submission. If the technical requirements are not met, the paper will be sent back to the author until satisfactory files are provided. Revised papers are checked by a member of the Editorial Board and may be subject to a further round of refereeing.

ACCEPTANCE, PROOFS, PRODUCTION AND PUBLICATION

When a paper is finally accepted you will be asked to supply some additional material for our Content Snapshot feature. Each Content Snapshot comprises a thumbnail image relevant to the paper and a short summary of its principal findings. For this, you will be asked to prepare a suitable Snapshot Image file (in colour) for the thumbnail illustration and also a short summary title and text (up to 60 words) to associate with the image. Examples of Content Snapshots can be found at <https://academic.oup.com/aob/article/120/3/i/4105892/Content-Snapshots> .

You will also be invited to submit an eye-catching front cover picture and about 60 words of text for possible printing on the inside cover of the issue in which your article would appear. The technical requirements are similar to those for manuscript photographs. The picture should be sharp, of good contrast and be related to the content of the submitted paper; however, it need not be duplicated in the paper itself. The image should be sent as a TIFF, JPG or GIF file at 300 dpi, size approx. 10 × 10 cm. Authors of selected material

will receive a COFy of the cover illustration and a complimentary COFy of the relevant issue of the Journal.

After acceptance you will also be asked to complete the online Licence to Publish form. This form also offers the opportunity to choose to have the full text and PDF versions of the paper made available to non-subscribers online from the time of first publication (Open Access). There is a charge for this, which varies depending on circumstances (see <http://www.oxfordjournals.org/oxfordopen/charges.html>) but it is considerably cheaper for authors whose university or institution subscribes to the Journal, and for authors in developing countries. If you do not select the Open Access option, your paper will be published with standard subscription-based access and no charge will be made.

Once a satisfactorily revised version has been received and accepted, the title of the paper, authorship and hyperlinked e-mail address of the corresponding author will be posted on the Annals of Botany website under AOB FirstAlert . This feature is accessible by subscribers and non-subscribers from the Journal's home page . Corresponding authors will receive PDF proofs by e-mail attachment approximately 4–6 weeks after acceptance. Corrected proofs should be returned within 24 h. Adobe Acrobat Reader will be needed to read the PDF proof and is downloadable without charge from: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html> . Authors should pay special attention to diagrams, figures and to equations since these items are usually re-keyed or redrawn by the publisher. At this stage, authors will also be invited to order offprints and extra single COFies of the issue in which the article will appear.

Publication and printing process

Once corrected proofs have been received and checked, the paper is posted on the website approximately six weeks ahead of print under AOB Preview . Each article is identified by a unique DOI (Digital Object Identifier), a code that can be used in bibliographic referencing and searching. The DOI and date of electronic publication in AOB Preview are also printed in the normal fully paginated monthly issue that is published about six weeks later. The paper will appear online and in print during the week preceding the start of the month of issue. The dates of submission, first return for revision, final acceptance and date of electronic publication of each article are printed on each paper.

The corresponding author will receive a free COFy of the printed issue in which their paper appears and a free URL that gives access to the article online and to a downloadable PDF. The corresponding author is responsible for distributing this URL to any co-authors.

Post-publication services

Monthly alerts that supply the Journal's current Table of Contents can be requested by clicking on Email table of contents or by using an RSS feed. For more details on the latter click on XML RSS feed . Readers can also be alerted to related papers in Annals of Botany and a wide range of other journals using the High Wire ' CiteTrack ' alerting system. To access this click on CiteTrack .

FORMAL STATEMENT

Upon receipt of accepted manuscripts at Oxford Journals authors will be invited to complete an online COFyright licence to publish form. Please note that by submitting an article for publication you confirm that you are the corresponding/submitting author and that Oxford University Press ("OUP") may retain your email address for the purpose of communicating with you about the article. You agree to notify OUP immediately if your details change. If your article is accepted for publication OUP will contact you using the email address you have used in the registration process.

Authors or their employers retain COFyright on articles published in Annals of Botany . However, it is a condition of publication in the Journal that authors or their employers grant an exclusive licence to the Annals of Botany Company by completing and signing the Licence to Publish. This ensures that requests from third parties to reproduce articles are handled efficiently and consistently and allows the article to be disseminated as widely as possible. The Licence permits authors to use their own material in other publications provided that the Journal is acknowledged as the original place of publication and that the Annals of Botany Company is notified in writing. For more about rights and permissions click on this link [Rights](#) .

The official publication date is the date on which the paper is first posted electronically on the website. This date will normally be when the paper appears in AOBPreview . If a paper is not posted in AOBPreview , the date of publication is the date of first appearance in a fully paginated print or electronic monthly issue.

Author Self-Archiving/Public Access policy

For information about this journal's policy, please visit our Author Self-Archiving policy page .