



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**

---

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**



**Modo de polinização em espécie papilionada e não-papilionada de Papilionoideae:  
*Discolobium pulchellum* e *Riedeliella graciliflora***

**LARISSA MARQUES BÉRGAMO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Orientadora: Maria Rosângela Sigrist

CAMPO GRANDE – MS

2017



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**

---

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**



**LARISSA MARQUES BÉRGAMO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Modo de polinização em espécie papilionada e não-papilionada de Papilionoideae:  
*Discolobium pulchellum* e *Riedeliella graciliflora***

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal junto ao Departamento de Biologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

CAMPO GRANDE – MS  
2017

*Dedico este trabalho aos meus pais, Laurindo e Regina que são os maiores incentivadores e responsáveis por mais essa conquista.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho;

À Prof<sup>a</sup> Maria Rosângela Sigrist, pela orientação, dedicação, confiança e principalmente paciência, além de todo incentivo durante a execução deste trabalho;

Aos membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite e às sugestões que contribuíram para o aperfeiçoamento do trabalho;

Ao Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul pela formação;

A FUNDECT (Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul) pela bolsa de estudos;

Aos professores do programa que contribuíram para minha formação acadêmica;

Aos curadores dos herbários CGMS, CPAP, EAC e MBM pelo empréstimo dos materiais;

Aos meus amigos e companheiros do LPRF (Laboratório de Polinização, Reprodução e Fenologia de Plantas) Bruno Henrique dos Santos Ferreira, André Luiz Fachardo, Aline Conceição Gomes, por todo auxílio no campo, compreensão e companhia;

À Camila Silveira de Souza pelo fornecimento de referências, dicas, broncas, pela amizade e todo auxílio prestado;

Ao técnico João Roberto Fabri por todo apoio no campo e fora dele durante as coletas em Porto Murtinho e no Pantanal;

À Tayeme Cristina Piva que mesmo longe sempre me deu forças e lucidez para continuar e não desistir;

Ao Tiago Green de Freitas pelo apoio, paciência e carinho na reta final do trabalho;

À minha família, que sempre me apoiou e compreendeu minha ausência durante a realização deste trabalho;

Agradeço também àquele que iluminou meu caminho com pessoas tão especiais, por ter me dado fé e forças e não ter me deixado fraquejar.

**A TODOS MEUS MAIS SINCEROS AGRADECIMENTOS!!**

## SUMÁRIO

Introdução Geral .....	6
Referências Bibliográficas .....	12
Figura 1 .....	18
Figura 2 .....	19
Figura 3 .....	20 e 21
<b>Artigo: Quem vê cara não vê especialização: efeito da morfologia floral no modo de polinização de <i>Discolobium pulchellum</i> e <i>Riedeliella graciliflora</i> (Papilionoideae)</b> .....	22
Resumo .....	23
Abstract .....	24
Introdução .....	25
Material e Métodos .....	28
Resultados .....	33
Discussão .....	39
Referências Bibliográficas .....	45
Tabela 1 .....	53
Tabela 2 .....	54
Tabela 3 .....	55
Figura 1 .....	56
Figura 2 .....	57
Figura 3 .....	58
Anexos	
SISBIO .....	59
Normas de Publicação (Plant Systematics and Evolution) .....	60

## **Introdução Geral**

Por muitos anos perdurou-se a ideia, na literatura específica e em livros didáticos, que a maioria das espécies de angiospermas apresenta sistemas de polinização especializados. Isso ocorre pelo fato da especialização em determinado tipo de polinizador ser considerado um processo central na diversificação das angiospermas (Stebbins 1970), além da influência do conceito de síndromes de polinização (Faegri e van der Pijl 1979) como marco teórico nesta linha de pesquisa. A publicação de artigos que questionavam a validade do conceito de síndromes (e.g. Waser et al. 1996) gerou debates sobre a prevalência de sistemas generalistas ou especialistas (e.g. Johnson e Steiner 2000). No entanto, surgiu uma vasta literatura (Fenster et al. 2004, Ramírez 2004, Freitas e Sazima 2006, Waser e Ollerton 2006) indicando que os sistemas de polinização das angiospermas se distribuem em um contínuo de extremos de generalização e especialização que podem ser classificados de várias formas.

Um sistema de polinização generalista pode ser baseado na morfologia floral: flores abertas com recurso(s) facilmente acessível(is) poderiam ser tratadas como generalistas; essa seria a definição de especialização fenotípica de Ollerton et al. (2007). Por outro lado, o número de interações entre uma espécie de planta e seus visitantes florais pode ser considerado determinante para o grau de generalização da interação, generalização ecológica para Ollerton et al. (2007). Por último, os mesmos autores definem “generalização/especialização funcional” como o número de espécies não relacionadas filogeneticamente, porém similares na morfologia e comportamento, com o qual uma espécie de planta interage. Nesse sentido, uma espécie com alto grau de generalização ecológica pode ser um especialista funcional caso os visitantes sejam equivalentes e exerçam uma pressão seletiva coletiva similar.

O polinizador mais efetivo é aquele de maior abundância e eficácia, de acordo com o princípio de Stebbins (1970). Assim, como modelo geral, a especialização do sistema de

polinização é vantajosa apenas quando acarreta maior eficiência na polinização e promove fluxo de pólen (Jonhson e Steiner 2000). Tal eficiência na polinização é dependente de morfologia floral que favoreça a transferência de pólen entre as flores e ainda impeça o acesso ao(s) recurso(s) floral(is) por visitantes ilegítimos (Aigner 2004).

Papilionoideae constitui a maior subfamília de Leguminosae, com 503 gêneros, 14000 espécies (LPWG 2017) agrupadas em 28 tribos. Apresentam uma variação ecológica e no gradiente geográfico associado com a diversificação das florestas tropicais úmidas, florestas sazonais secas, savanas e regiões temperadas do mundo (Lewis et al. 2005, Cardoso et al. 2012, 2013). No Brasil são registrados aproximadamente 200 gêneros e 1500 espécies distribuídas pela Mata Atlântica (Lima et al. 2009), campos rupestres (Garcia e Dutra 2004), Caatinga (Lima et al. 2016), Floresta Amazônica (Ducke 1949, Silva 2008), Cerrado (Silva et al. 2010), Pampas (Miotto et al. 2008) e Pantanal (Pott e Pott 1994).

A principal característica morfológica e distintiva da subfamília é a flor papilionada que apresenta organização específica, utilizada para caracterizar e unificar quase todas as Papilionoideae (Cardoso et al. 2013). Nesta subfamília a flor papilionada tem a corola pentâmera diferenciada em um vexilo (ou estandarte), duas asas (ou alas) e uma quilha (ou carena) (Fig. 1). A quilha é formada por duas pétalas fundidas na porção inferior e às vezes parcialmente na superior e envolve a coluna estaminal (geralmente formada por nove estames fundidos e um livre), que por sua vez envolve o gineceu (Endress 1994, Westerkamp e Weber 1999, Westerkamp e Claßen-Bockoff 2007). Esta organização floral confere bilateralidade à flor e restringe, aos visitantes florais, acesso ao pólen e néctar (Cardoso et al. 2013). Entretanto, na subfamília ocorrem representantes com flores não papilionadas, ou seja, sem quilha e, portanto, com estames e gineceu expostos; muitos têm flores com simetria radial e/ou com pétalas incompletamente diferenciadas (Westerkamp e Paul 1993, Cardoso et al. 2013). Os grupos não papilionados eram considerados “primitivos” dentro de Papilionoideae

(Polhill 1981), hipótese hoje invalidada por estudos filogenéticos e de morfologia molecular (e.g. Pennington et al. 2001, McMahon e Hufford 2004, Cardoso et al. 2013). Estes estudos mostram que a organização especializada das peças florais nas flores papilionadas é evolutivamente “instável”, rejeitando a visão tradicional de que os grupos “primitivos” possuíam flores não-papilionadas, caráter hoje considerado polifilético (Tucker e Douglas 1994, Cardoso et al. 2013).

*Discolobium* é gênero registrado na Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai e, no Brasil (Alagoas, Bahia, Ceará, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Paraíba, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Sergipe e Piauí) (Fig. 2A) em vegetação de Cerrado, Caatinga e Pantanal (Loureiro et al. 1994, Pott e Pott 2000, Lima 2015). *Riedeliella* é um gênero exclusivo do sudeste da América do Sul e ocorrente no Paraguai e no Brasil, em vários Estados (Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) (Fig. 2B) e em diversos tipos de vegetação de Cerrado, Caatinga, Mata Ciliares, Matas de Tabuleiro e Capoeiras (Lima e Vaz 1984). Pott e Pott (2000) relatam, no Pantanal, floração de *D. pulchellum* durante onze meses do ano, com baixa produção de frutos de setembro a fevereiro. Quanto à polinização, *D. pulchellum* é visitada por abelhas de médio e grande porte, consideradas polinizadores efetivos, pois são as únicas que conseguem “acionar” a quilha da flor. Para *Riedeliella* não encontramos nenhuma informação disponível na literatura para nenhuma das vegetações. Com base em material de herbário Lima e Vaz (1984) mencionam a floração de *R. graciliflora* principalmente em novembro e registraram presença de frutos de abril a agosto em vegetações de Cerrado.

Flores papilionadas, ou “flores com quilha”, geralmente são nectaríferas, fortemente zigomorfas e possuem dois elementos funcionais principais: (1) o vexilo, que “funciona” como elemento de atração visual, guia de recurso e de língua e como estrutura de apoio durante a visita do polinizador (geralmente abelhas) e (2) a quilha, que protege o pólen da



chuva e da coleta pelos visitantes florais (principalmente abelhas), auxilia na liberação gradual e deposição do pólen/contato do estigma em local fixo no corpo do polinizador, além de, junto com as asas, servir de plataforma de pouso para os insetos visitantes (Endress 1994, Westerkamp e Weber 1999, Westerkamp e Claßen-Bockoff 2007) (Fig. 1). Nestas flores, as quilhas podem apresentar modificações, como fusão de ambas as margens produzindo diferenças no mecanismo de apresentação dos grãos de pólen aos polinizadores e, portanto, no modo de polinização (Endress 1994). A morfologia e o funcionamento das flores com quilha dificultam ou impedem a coleta de pólen (estrutura que armazena o gametófito masculino da planta, recurso não “renovável”) pelas abelhas, ao mesmo tempo em que torna mais eficiente e econômica a deposição do pólen tanto no corpo do polinizador como no estigma da flor (Arroyo 1981, Westerkamp e Claßen-Bockoff 2007).

A característica funcional mais importante da flor com quilha é o mecanismo de disparo (liberação ou exposição do pólen), no qual a coluna estaminal é exposta após pressão do visitante floral ao pousar sobre as asas e a quilha com objetivo de acessar o néctar acumulado na base intraestaminal da flor (Arroyo 1981). A exigência de disparo implica em restrição para coleta de néctar e, às vezes de pólen, e parece ter permitido o desenvolvimento de relações cada vez mais especializadas entre as flores papilionadas e os visitantes/polinizadores (Leppik 1966). São reconhecidos quatro mecanismos de disparo: explosivo (e.g. *Desmodium*, *Indigofera*, *Mucuna*, Genisteae não nectaríferas), valvular (maioria dos gêneros), pistão (e.g. *Lotus*, *Lupinus*) e escova (Phaseoleae, Viceae) (Endress 1994).

As flores papilionadas são geralmente polinizadas por abelhas, muitas vezes de médio e grande porte, embora ocorra registro de polinização por moscas, aves, lagartos e mamíferos (e.g. Baker 1970, Arroyo 1981, Westerkamp e Paul 1993, Endress 1994, Tandon et al. 2003, Etcheverry e Trucco-Alemán 2005, Sazima et al. 2005, Agostini et al. 2006, Etcheverry et al. 2012, Alemán et al. 2014). A especialização das flores papilionadas, do ponto de vista da

polinização, conta com a hipótese da restrição da abordagem pelos visitantes florais (Heinrich 1979, Polhill et al. 1981). Neste caso, a morfologia evita (ou pelo menos limita) espécies ineficientes de polinizadores ou pilhadoras de obterem o recurso (normalmente néctar), que em flores zigomorfas é muitas vezes escondido e requer comportamentos específicos e/ou morfologia especializada para acessar.

Dentro da classificação de não papilionadas em Papilionoideae estão inseridas espécies de pelo menos 32 gêneros (e.g. *Acosmium*, *Aldina*, *Alexa*, *Amburana*, *Amorpha*, *Amphimas*, *Ateleia*, *Baphiopsis*, *Bobgunnia*, *Bocoa*, *Camoensia*, *Candolleodendron*, *Castanospermum*, *Cordyla*, *Cyathostegia*, *Dichaepetalum*, *Errazurizia*, *Etaballia*, *Eysenhardtia*, *Harleyodendron*, *Holocalyx*, *Inocarpus*, *Leptolobium*, *Monopteryx*, *Myrocarpus*, *Myroxylon*, *Parryella*, *Riedeliella*, *Sophora*, *Swartzia*, *Sweetia*, *Trischidium* e *Xanthocercis*). Estas são teoricamente mais generalistas quanto ao serviço de polinização, pois as flores não restringem o acesso ao(s) recurso(s) aos visitantes florais, permitindo assim que vários grupos de diferentes táxons realizem a visita (e.g. Waser et al. 1996). Essa classificação ainda inclui exemplos (Tucker 1990, Leite et al. 2015) de perda de pétalas (*Amburana*, *Amorpha*, *Ateleia*, *Baphiopsis*, *Bobgunnia*, *Bocoa*, *Camoensia*, *Candolleodendron*, *Cordyla*, *Cyathostegia*, *Holocalyx*, *Monopteryx*, *Myrocarpus*, *Myroxylon*, *Parryella*, *Swartzia* e *Trischidium*), numerosos estames livres (*Aldina*, *Bobgunnia*, *Bocoa*, *Cordyla*, *Cyathostegia*, *Harleyodendron*, *Myrocarpus*, *Swartzia*, *Trischidium* e *Xanthocercis*) e simetria radial (*Acosmium*, *Aldina*, *Alexa*, *Amphimas*, *Castanospermum*, *Dichaepetalum*, *Errazurizia*, *Eysenhardtia*, *Harleyodendron*, *Inocarpus*, *Leptolobium*, *Riedeliella*, *Sophora* e *Sweetia*).

Os registros sobre a polinização de flores não papilionadas são escassos quando comparado ao de flores papilionadas. Em *Swartzia apetala* var. *apetala* a polinização é realizada por abelhas *Centris*, *Xylocopa* e *Eulaema* que coletam pólen por vibração apesar das anteras não serem poricidas (Moço e Pinheiro 1999). *Cyathostegia* é polinizada por abelhas e besouros,

sendo que os últimos “caminham” sobre as flores e o pólen adere ao corpo dos mesmos (Lewis et al. 2003). Há registros de polinização por beija-flor em *Cordyla africana* (Seavey e Raven 1977) e por abelhas (Milne 1937) para outras espécies de *Cordyla* em que sua flor tipo pincel libera os grãos de pólen no corpo do visitante. Abelhas *Euglossini* spp. (Machado e Lopes 2004) acabam “se sujando” de pólen na parte ventral do corpo quando polinizam espécies de *Amburana*. *Pterodon* também é polinizada por abelhas (Afonso 1997) e possui um mecanismo intermediário de polinização, entre o valvular e o explosivo (Westerkamp 1997).

Papilionoideae é considerado grupo monofilético no qual a presença de flor não papilionada nos ramos iniciais dos cladogramas é interpretada como reversões evolutivas de uma flor papilionada (Pennington et al. 2001, McMahon e Hufford 2004, Cardoso et al. 2013). Dentre estes cladogramas temos Dalbergieae *sensu lato* constituído por três principais linhagens bem resolvidas de gêneros morfologicamente distintos (*Adesmia*, *Dalbergia*, *Pterocarpus*) dentre os quais as flores não papilionadas evoluíram independentemente em alguns pequenos gêneros como *Acosmium*, *Etaballia*, *Inocarpus* e *Riedeliella* (linhagem *Pterocarpus*) e algumas espécies de *Pictetia* (linhagem *Dalbergia*) (Fig. 3). Três dos gêneros não papilionados da linhagem *Pterocarpus*, têm como grupo irmão gêneros papilionados, são eles: *Etaballia*–*Pterocarpus*, *Inocarpus*–*Tipuana* e *Riedeliella*–*Discolobium* (Klitgaard et al. 2012, Cardoso et al. 2013) (Fig. 3).

Além da proximidade filogenética de *Discolobium* e *Riedeliella*, a ausência geral de dados sobre a polinização de flores não papilionadas com simetria radial (Cardoso et al. 2013), estudamos a morfologia e a biologia floral, os visitantes florais/polinizadores e o sistema de reprodução e polinização de *Discolobium pulchellum* Benth. e *Riedeliella graciliflora* Harms. para verificar se as flores destas espécies são de fato especialistas ou generalistas quanto ao modo de polinização. Para tanto, responderemos as seguintes questões: (i) em que diferem as unidades de polinização do ponto de vista fenotípico (*sensu* Faegri e van der Pijl 1979) de *D.*

*pulchellum* e *R. graciliflora*?; (ii) a flor papilionada de *D. pulchellum* é mais restritiva quanto ao acesso dos visitantes aos recursos florais (e.g. néctar, pólen) que a não-papilionada com simetria radial de *R. graciliflora*? (iii) quais são as espécies de visitantes e polinizadores associadas às flores de ambas as espécies? (iv) que modo/mecanismo de polinização as espécies apresentam? (v) qual(is) o(s) polinizador(es) efetivo(s), considerando o sistema de reprodução da espécie, o comportamento de visita intrafloral e/ou de forrageamento dos potenciais polinizadores? Dessa forma, a partir de conhecimentos e observações prévias, nós esperamos que *Discolobium pulchellum* seja mais especialista do que *Riedeliella graciliflora* quando falamos em generalização/especialização ecológica, funcional e fenotípica.

### Referências Bibliográficas

- Afonso AP (1997) Biologia reprodutiva de *Pterodon pubescens* Benth. e *P. polygalaeiflorus* Benth. (Fabaceae – Papilionoideae) em áreas de cerrado do Distrito Federal. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília
- Agostini K, Sazima M, Sazima I (2006) Bird pollination of explosive flowers while foraging for nectar and caterpillars. *Biotropica* 38:674–678. doi: [10.1007/s00114-011-0844-6](https://doi.org/10.1007/s00114-011-0844-6)
- Aigner PA (2004) Floral specialization without trade-offs: optimal corolla flare in contrasting pollination environment. *Ecology* 85:2560–2569
- Alemán M, Figueroa-Fleming T, Etcheverry A, Sühring S, Ortega-Baes P (2014) The explosive pollination mechanism in Papilionoideae (Leguminosae): an analyses with three *Desmodium* species. *Pl Syst Evol* 300:177–186. doi: [10.1007/s00606-013-0869-8](https://doi.org/10.1007/s00606-013-0869-8)
- Arroyo MTK (1981) Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In: Polhill RM, Raven PH (eds) *Advances in legume systematics (part II)*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp 723–769

- Baker HG (1970) Two cases of bat pollination in Central America. *Rev Biol Trop* 17:178–197
- Cardoso D, Lima HC, Rodrigues RS, Queiroz LP, Pennington RT, Lavin M (2012) The realignment of *Acosmium* (*sensu stricto*) with the Dalbergioid clade (Leguminosae, Papilionoideae) reveals a proneness for independent evolution of radial floral symmetry among early branching papilionoid legumes. *Taxon* 61:1057–1073
- Cardoso D, Pennington RT, Queiroz LP, Boatwright JS, Van Wyk BE, Wojciechowski MF, Lavin M (2013) Reconstructing the deep-branching relationships of the papilionoid legumes. *S African J Bot* 89:58–75. doi:[10.1016/j.sajb.2013.05.001](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.05.001)
- Ducke A (1949) Notas sobre a Flora Neotrópica – II. As leguminosas da Amazônia Brasileira. Boletim Técnico do Instituto de Agronomia. Belém. 18
- Endress PK (1994) Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge
- Endress PK (1994) Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. *Pl Syst Evol* 192:79–97
- Etcheverry AV, Trucco-Alemán CE (2005) Reproductive biology of *Erythrina falcata* (Fabaceae: Papilionoideae). *Biotropica* 37:54–63
- Etcheverry AV, Alemán MM, Figueroa-Fleming T, Gomez CA, Lopez-Spahr D (2012) Anther-stigma separation in *Desmodium* species (Papilionoideae-Fabaceae) from Northwestern Argentina. *Acta Hort* 918:183–188
- Faegri K, van der Pijl L (1979) *The Principles of Pollination Ecology*. Perg. Press Oxford. 3
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, Dudash MR, Thomson JD (2004) Pollination syndromes and floral specialization. *Ann. Review Ecol. Evol. Syst.* 35:375–403

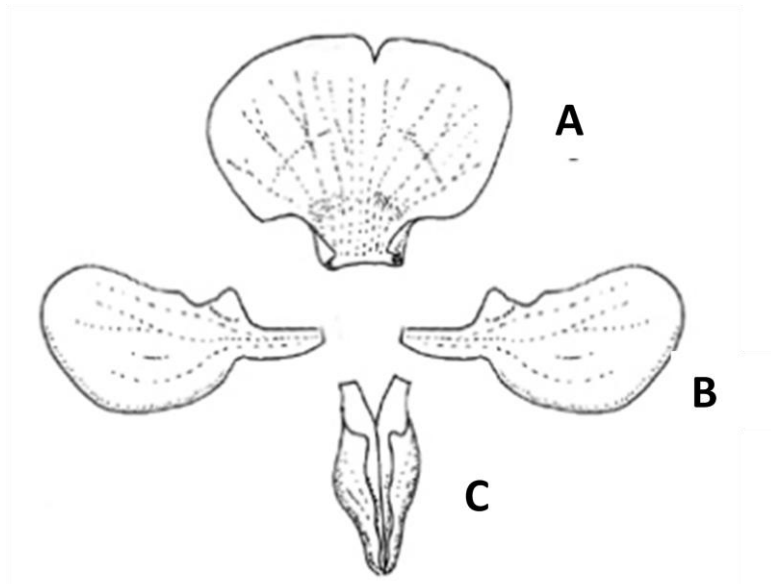
- Garcia FCP, Dutra VF (2004) Leguminosae nos Campos Rupestres. In: CD-ROM. Simpósios, palestras e mesas redondas do 55º Congresso Nacional de Botânica. Viçosa, Alpha Mídia Assessoria Fonográfica
- Heinrich B (1979) Bumblebee Economics. Harvard University Press, Cambridge. 245
- Johnson SD, Steiner KE (2000) Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends Ecol. Evol.* 15:140–143
- Klitgaard BB, Forest F, Booth TJ, Saslis-Lagoudakis CH (2012). A detailed investigation of the *Pterocarpus* clade (Leguminosae: Dalbergieae): *Etaballia* with radially symmetrical flowers is nested within the papilionoid-flowered *Pterocarpus*. *S African J Bot* 89:128–142. doi:[10.1016/j.sajb.2013.07.006](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.07.006)
- Leite VG, Teixeira SP, Mansano WF, Prenner G (2015) Floral development of the early branching papilionoid legume *Amburana cearensis* (Leguminosae) reveals rare and novel characters. *Int J Pl Sci* 176
- Leppik EE (1966) Floral evolution and pollination in the Leguminosae. *Ann Bot Fenn* 3:299–308. <http://www.jstor.org/stable/23724265>
- Lewis G, Knudsen JT, Bente B, Pennington RT (2003) The floral scent of *Cyathostegia mathewsii* (Leguminosae, Papilionoideae) and preliminary observations on reproductive biology. *Bioc Syst Evol* 31:951–962
- Lewis G, Schrire B, Mackinder B, Lock M (2005) Legumes of the World. (Eds.) Royal Botanic Gardens, Kew
- Lima HC, Vaz AMSF (1984) Revisão taxonômica do gênero *Riedeliella* Harms (Leguminosae – Faboideae). *Rodriguésia* 36:9–16
- Lima HC, Tozzi AMGA, Fortuna-Perez AP, Flores AS, Vaz AMSF, Klitgaard BB, Cardoso DBOS, Filardi FLR, Garcia FCP, Lewis GP, Iganci JRV, Meireles JE, Valls JFM, Lima LCP, Queiroz LP, Silva MJ, Morim MP, Barros MJF, Queiroz RT, Fortunato RH,

- Pennington T, Miotto ST, Moura TM, Dutra VF, Mansano VF, Souza VC, Scalon VR (2009) Fabaceae. In Plantas da Floresta Atlântica (J.R. Stehmann, R.C. Forzza, M. Sobral & L.H.Y. Hamino (Eds)). Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 259–283
- Loureiro MDF, Faria SD, James EK, Pott A, Franco AA (1994). Nitrogen fixing stem nodules of the Legume, *Discolobium pulchellum* Benth. *New Phyt* 128:283–295
- LPWG (Legume Phylogeny Working Group) (2017) A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon* 66: 44–77. doi: <https://doi.org/10.12705/661.3>
- Machado IC, Lopes AV (2004) Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest. *Ann Bot* 94:365–476
- McMahon M, Hufford L (2004) Phylogeny of Amorpeae (Fabaceae: Papilionoideae). *Am J Bot* 91:1219–1230
- Milne E (1937) The genus *Cordyla* Loureiro. *Wiley On Lib* 8–16
- Miotto STS, Lüdtker R, Oliveira MLAA (2008) A família Leguminosae no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev Bras Bioc* 6:3
- Moço MCC, Pinheiro MCB (1999) Pollination ecology of *Swartzia apetala* Raddi var. *apetala* (Leguminosae– Papilionoideae). *Braz Archives Biol Tec* 42:415–423
- Ollerton J, Killick A, Lamborn E, Watts S, Whiston M (2007) Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. *Taxon* 56:717–728
- Pennington RT, Lavin M, Ireland H, Klitgaard B, Preston JHU (2001) Phylogenetic relationships of basal papilionoid legumes based upon sequences of the chloroplast trnL intron. *Syst Bot* 26:537–556
- Polhill RM (1981) Papilionoideae. In: Polhill, R. M.; Raven, P.H. *Advances in Legume Systematics*. Royal Botanical Gardens, Kew. 1:191–208

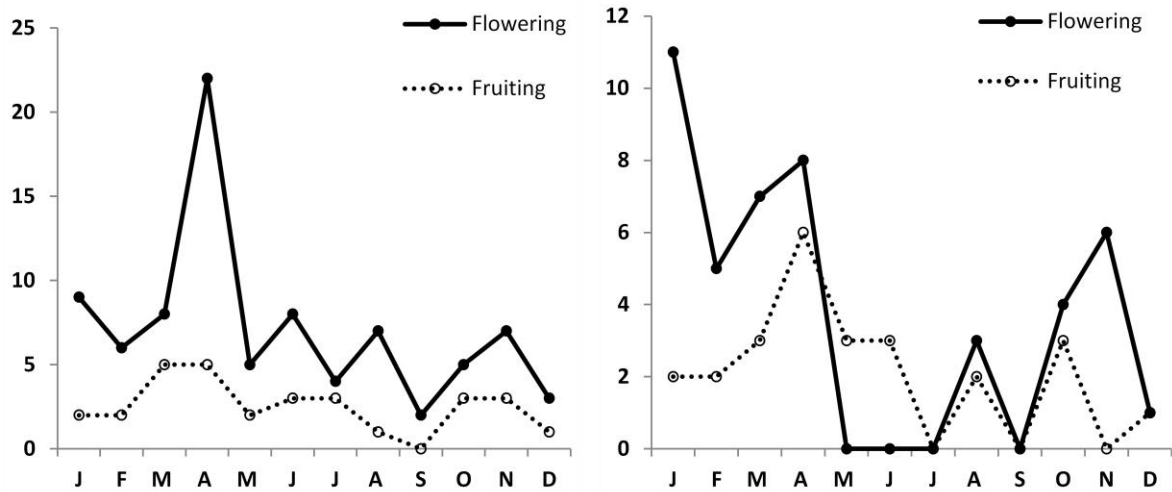
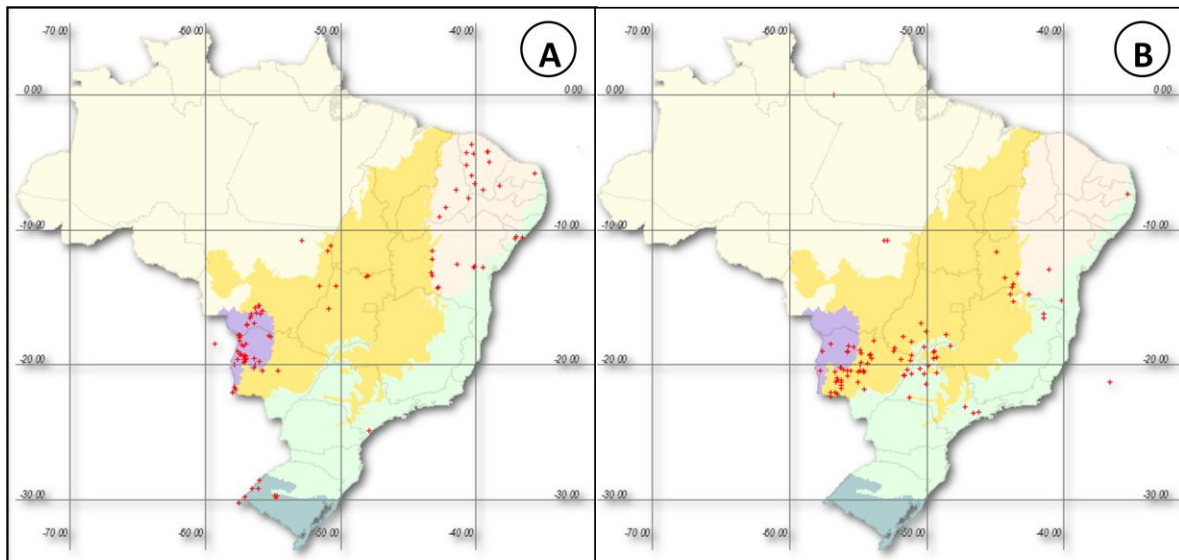
- Polhill RM, Ohashi H, Schubert BG (1981) Desmodieae (Benth.) Hutch. (1964) In: Polhill RM, Raven PH Ed(s). *Advances in legume systematics*. Kew 292–300
- Pott A, Pott VJ (1994) *Plantas do Pantanal*. Embrapa, Brasília
- Pott VJ, Pott A (2000) *Plantas Aquáticas do Pantanal*. Embrapa Comunicação e Transferência de Tecnologia
- Ramírez N (2004) Pollination specialization and time of pollination on a tropical Venezuelan plain: variations in time and space. *Bot. J. Linn. Soc.* 145:1–16
- Sazima I, Sazima C, Sazima (2005) Little dragons prefer flowers to maidens: a lizard that laps nectar and pollinates trees. *Bio Neotrop* 5:185–192
- Seavey SR, Raven PH (1977) Experimental hybrids in *Epilobium* (including sect. *Zauschenria*) species with N = 15 (Onagraceae). *Am J Bot* 64:439–442
- Silva MMF (2008) *Macrobium* Schreb., *Peltogyne* Vog. e *Eperua* Aubl. Leguminosae: Caesalpinioideae: Detarieae da Floresta Nacional de Caxiuanã, com ênfase na grade do PPBIO, Pará, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém
- Silva RR, Pardo AL, Perez APF, Segalla R (2010) Espécies herbáceas e lenhosas de Leguminosae numa área de Cerrado no Mato Grosso, Brasil. *Rev Bras Bioc* 8:4
- Stebbins GL (1970) Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. I: Pollination mechanisms. *An. Review Ecol. Syst.* 1:307–326
- Tandon R, Shivanna KR, Mohan Ram HY (2003) Reproductive biology of *Butea monosperma* (Fabaceae). *Ann Bot* 92:715–723
- Tucker SC (1990) Loss of floral organs in *Ateleia* (Leguminosae: Papilionoideae: (Sophoreae). *Am J Bot* 77:750–761



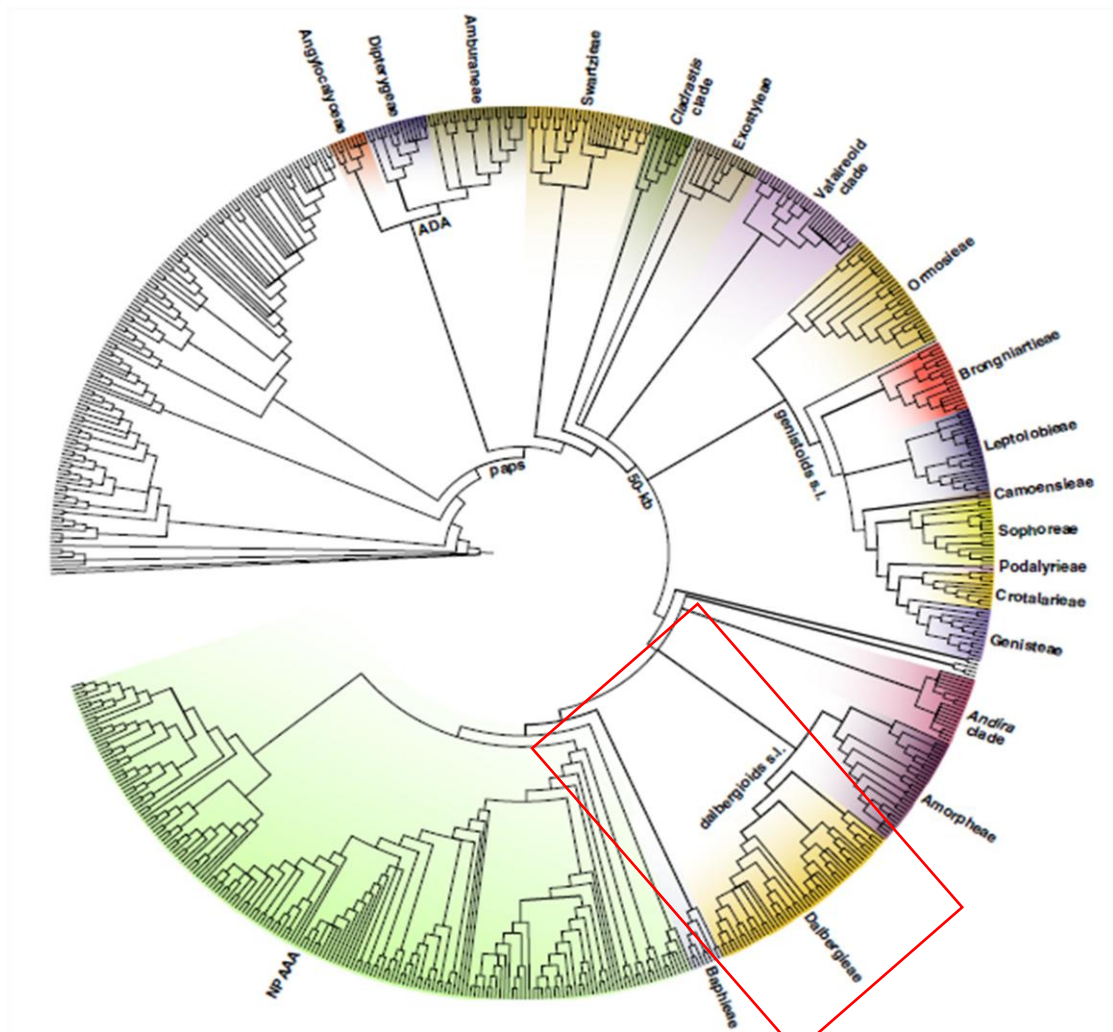
- Tucker SC, Douglas AW (1994) Ontogenetic evidence and phylogenetic relationships among basal taxa of legumes. In: Ferguson, I.K.; Tucker, S. (Eds.). *Advances in Legume systematic*. Royal Botanical Gardens 11–32
- Waser NM, Chittka L, Price MV, Williams NM, Ollerton J (1996) Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77:1043–1060.  
<http://www.jstor.org/stable/2265575>
- Waser NM, Ollerton J (2006) *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization*. University of Chicago Press, Chicago.
- Westerkamp C, Paul H (1993) *Apios americana*, a fly-pollinated papilionaceous flower? *Pl Syst Evol* 187:135–144
- Westerkamp C (1997) “Flowers and bees are competitors not partners. Towards a new understanding of complexity in specialized bee flowers,” in *Pollination: from theory to practice*. *Proc. 7th Internatl. Sym Pollin Acta Hort* 437:71–74
- Westerkamp C, Weber A (1999) Keel flowers of the Polygalaceae and Fabaceae: a functional comparison. *Bot J Linn Soc* 129:207–221
- Westerkamp C, Clabe-Bockhoff R (2007) Bilabiate flowers: the ultimate response to bees? *Ann Bot* 100:361–374. doi:[10.1093/aob/mcm123](https://doi.org/10.1093/aob/mcm123)

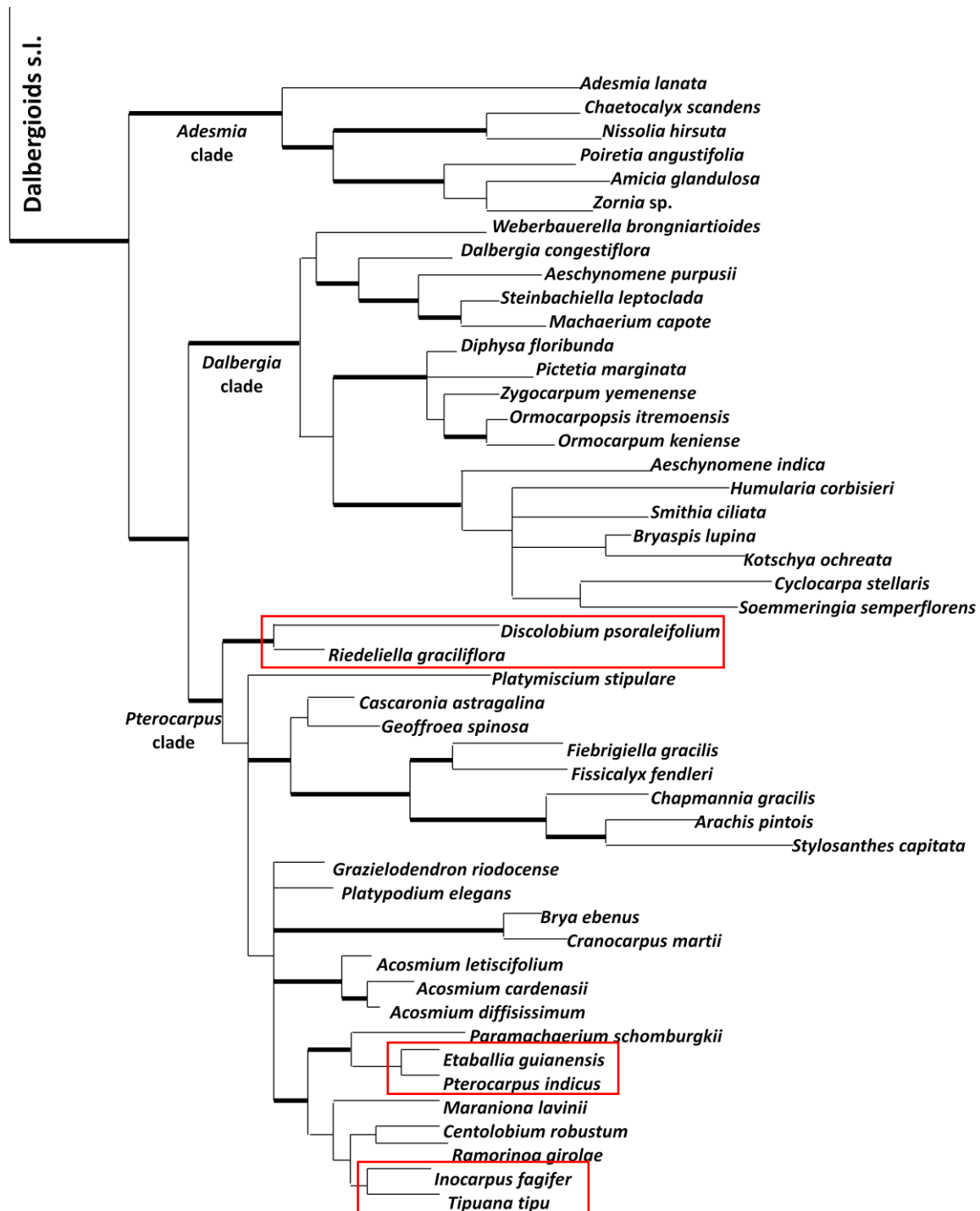


**Fig. 1.** Esquema de uma flor papilionada. **A** - vexilo (estandarte), **B** - asas (alas) e **C** - quilha (carena).



**Fig. 2.** Mapa de distribuição geográfica e fenologia (floração e frutificação) dos gêneros *Discolobium* (A) e *Riedeliella* (B) no Brasil.





**Fig. 3.** Árvore filogenética circular resumida de leguminosae mostrando os principais clados de ramificação precoce em Papilionoideae (superior) e o clado foco do estudo (Dalbergieae) e exemplos de grupo-irmão entre gêneros papilionados e não-papilionados (destaque) (inferior).

**Quem vê cara não vê especialização: efeito da morfologia floral no modo de polinização de *Discolobium pulchellum* e *Riedeliella graciliflora* (Papilionoideae)**

**Larissa Marques Bergamo<sup>1</sup>, Camila Silveira de Souza<sup>2</sup> e Maria Rosângela Sigris<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Polinização, Reprodução e Fenologia de Plantas, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil. Autor para correspondência: [sigrisster@gmail.com](mailto:sigrisster@gmail.com)

**Resumo** O espectro de interações planta-polinizador abrange desde interações de especialização obrigatória à grande generalização. Flores com morfologia mais restritiva podem ser mais especializadas quanto aos polinizadores, pois restringem o acesso ao recurso floral, em oposição às flores mais generalistas, como por exemplo, àquelas com simetria radial, que apresentam o recurso floral completamente acessível. Porém, a divisão generalização-especialização dentro da polinização pode mascarar uma realidade mais complexa e variável. Aqui verificamos se as flores de *Discolobium pulchellum* (papilionada) e *Riedeliella graciliflora* (não papilionada) com morfologias distintas são respectivamente, de fato especializadas ou generalistas. Nosso estudo mostrou que a estrutura floral mais simples ou a condição morfológicamente generalista de *R. graciliflora*, não significou a perda de especialização na polinização, seja ela funcional ou ecológica. A especialização funcional em *R. graciliflora* reside no fato das flores serem poliníferas, do tipo *Papaver*, e visitadas e polinizadas exclusivamente por abelhas. Já em *D. pulchellum* a especialização das flores reside no fenótipo floral e no mecanismo de polinização (disparo), que exige comportamento adequado do polinizador para acionar este mecanismo, no entanto, esta organização floral elaborada não impediu visitas ilegítimas à flor. A reversão para flores morfológicamente mais generalistas em Papilionoideae mostra uma transição de especialização.

**Palavras-Chave** Clado *Discolobium-Riedeliella* • Flor de Pólen •  
Generalização–Especialização Floral • Leguminosae • Néctar • Polinização Vibrátil

**Abstract** The spectrum of plant-pollinator interactions ranges from obligate specialized interactions to extreme generalization considering the floral traits (morphological, physiological, ecological). Flowers with more restrictive morphology may be more “specialized” in association with pollinators because they restrict the access to the floral resource, in contrast to more “generalist” flowers, such as those with open radial symmetry and accessible floral resources, e.g. brush flower types. However, the generalization-specialization division within pollination masks a more complex and variable reality. Here, we studied whether the flowers and the pollination of *Discolobium pulchellum* (papilionate) and *Riedeliella graciliflora* (non-papilionate) with radial symmetry are, respectively, in fact “specialized” or “generalized”, considering the phylogenetic proximity within the *Pterocarpus* lineage (Leguminosae, Papilionoideae, clade Dalbergieae *sensu lato*). Our study shows that the simpler floral structure or morphologically “generalist” (non-papilionate, open, with radial symmetry) condition as observed in *R. graciliflora* did not lead to loss of specialization in pollination, either functional or ecological. The functional specialization in *R. graciliflora* resides in the fact that it offers pollen as reward (*Papaver* type) and it is visited and pollinated exclusively by bees. In *D. pulchellum*, the specialization of flowers resides in the floral phenotype and in the mechanism of pollination (shooting), which requires the pollinator to behave appropriately in order to activate this mechanism, however, the elaborated floral organization did not prevent illegitimate visits to the flower. A reversal for morphologically more generalist flowers in Papilionoideae shows a transition of specialization.

**Keywords** Buzz Pollination • *Discolobium-Riedeliella* Clade • Generalist–Specialist flower  
• Leguminosae • Nectar • Pollen flower



## **Introdução**

As interações planta-polinizador abrangem um amplo e contínuo espectro de interações que vão da especialização obrigatória (uma única espécie de animal poliniza uma espécie vegetal) à grande generalização, na qual uma espécie vegetal pode ser adequadamente polinizada por diversos grupos de animais taxonomicamente distintos (Waser et al. 1996; Ollerton et al. 2007). Neste aspecto, os atributos florais (morfológicos, fisiológicos) são relevantes, pois flores com morfologia mais restritivas e/ou com funcionamento mais elaborado poderiam ser mais especializadas quanto aos polinizadores ao restringir ou impedir acesso ao recurso floral (e.g. néctar, óleo, pólen), ocorrendo o contrário com flores mais generalistas, como por exemplo, aquelas com simetria radial, abertas e com néctar e pólen acessíveis (Olesen et al. 2007).

Entretanto a dicotomia generalização-especialização mascara uma realidade mais complexa e variável que levou Ollerton et al. (2007) a sugerirem o uso de termos mais exatos como a generalização e especialização funcional, ecológica e fenotípica que permitem uma melhor compreensão das interações planta-polinizador. Os mesmos autores definem “generalização/especialização funcional” como o número de espécies não relacionadas filogeneticamente, porém similares na morfologia e comportamento, cuja espécie de planta interage. Por outro lado, o número de interações entre uma espécie de planta e seus visitantes florais pode ser considerado determinante para o grau de generalização da interação, generalização ecológica. Nesse sentido, uma espécie com alto grau de generalização ecológica pode ser um especialista funcional caso os visitantes sejam equivalentes e exerçam uma pressão seletiva coletiva similar. Além disso, a classificação de um sistema de polinização pode ser baseada na morfologia floral: flores abertas com recurso(s) facilmente acessível(is) poderiam ser tratadas como generalistas; essa seria a definição de especialização fenotípica de Ollerton et al. (2007).

Estudos revelam que quando estudadas com maior profundidade, espécies aparentemente especialistas são de fato, totalmente especialistas, ou ao menos mais generalizadas do que parecem à primeira vista. Por exemplo, as flores de *Hedera helix* (Araliaceae) são fenotipicamente generalistas (actinomorfas, abertas, produzem grande quantidade de néctar acessível), porém são ecologicamente e funcionalmente especialistas, pois embora as flores sejam visitadas por amplo espectro taxonômico de insetos, os polinizadores efetivos são vespas do gênero *Vespula* (especialização ecológica) e as flores apresentam diversos atributos comuns a outros grupos de plantas polinizados por Vespidae e Pompilidae como, coloração verde ou amarelo pálido, distinto odor almiscarado e néctar muito concentrado (especialização funcional) (Ollerton et al. 2007).

Papilionoideae constitui a maior subfamília de Leguminosae com 503 gêneros, 14000 espécies reunidas em 28 tribos e que possuem grande diversidade ecológica e biogeográfica, e estão distribuídas desde florestas úmidas até desertos (Dutra et al. 2009; Cardoso et al. 2013; LPWG 2013, 2017). O principal atributo morfológico e distintivo é a flor papilionada com organização especializada que é utilizada para caracterizar e unificar quase todos os membros da subfamília (Cardoso et al. 2013). Entretanto, em diversos clados iniciais da subfamília (e.g. Amburaneae, Amorpheae, Dalbergieae, Leptolobieae, Swartzieae) ocorrem representantes com flores não papilionadas, ou seja, sem quilha e, portanto, com estames e gineceu expostos e com simetria bilateral (e.g. *Amburana*, *Camoensia*, *Myroxylon*, *Swartzia*) ou radial (e.g. *Ateleia*, *Etabalia*, *Inocarpus*, *Leptolobium*, *Riedeliella*, *Sweetia*, *Xanthocercis*) ou ainda com pétalas incompletamente indiferenciadas (e.g. *Cordyla*, *Holocalyx*, *Myrocarpus*, *Parryella*) para os quais Cardoso et al. (2013 e referências) deixam uma questão: porque os gêneros basais de Papilionoideae são tão propensos a mudar de simetria floral? Os autores passam a ideia de que flores abertas e com simetria radial, sejam mais generalistas quanto aos polinizadores e apresentam modo de polinização menos elaborado que o das flores

papilionadas. Parte disso advém da falta de dados sobre a polinização dos grupos com flores não-papilionados com simetria radial em relação aos representantes com flores papilionados.

As flores papilionadas, ou “flores com quilha” (Westerkamp e Claßen-Bockhoff 2007), geralmente são nectaríferas e tem as pétalas claramente diferenciadas em estandarte (ou vexilo), asas (ou alas) e quilha (ou carena) que envolve os estames parcialmente fundidos (coluna ou “bainha” estaminal), que por sua vez envolve o gineceu. A característica funcional mais importante da flor papilionada é o mecanismo de disparo, que ocorre quando a coluna estaminal é exposta sobre pressão quando o polinizador pousa sobre a quilha para tentar acessar o néctar acumulado na base da flor. A exigência de disparo promove economia de néctar e, às vezes de pólen, e parece ter permitido o desenvolvimento de relações cada vez mais especializadas entre as flores papilionadas e os polinizadores (Leppik 1966; Arroyo 1981; Endress 1994). Esta organização floral especializada limita o acesso ao néctar e pólen e está intimamente associada à polinização por abelhas (Westerkamp e Claßen-Bockhoff 2007; Carvalho et al. 2013), embora haja registros de polinização por outros animais como mosca (Westerkamp e Paul 1993), aves (Tucker 1993 e referências; Bruneau 1997; Etcheverry e Alemán 2005; Etcheverry et al. 2012; Snak et al. 2016) e morcegos (Hopkins e Hopkins 1993; Agostini et al. 2011). Dados sobre a polinização de representantes com flores não-papilionados de Papilionoideae são menos comuns e nos estudos disponíveis a polinização por abelhas também predomina em alguns (*Amorpha*, *Cyathostegia*, *Dalea*, *Errazurizia*, *Swartzia*) (Kelt 1977; Lopes e Machado 1996; Moço e Pinheiro 1999; Lewis et al. 2003; Cane 2006; Slagle e Hendrix 2009; Linares e Koptur 2010), com relatos de polinização por esfingídeos em *Camoensia* (Vogel 1969 *apud* Endress 1994), aves em *Castanospermum australe* (Cribb 1969 *apud* Tucker 1993; Williams e Adam 1994), *Sophora fernandeziana* (Bernardello et al. 2004) e *S. microphylla* (Tucker 1994), morcegos em *Alexa* (Vogel 1969

*apud* Endress 1994; Ramirez 1995) e vento em *Ateleia* (Janzen 1989 *apud* Tucker 1990; Ireland et al. 2010).

Dentre os clados basais de Papilionoideae, o Dalbergieae *sensu lato* é formado por três linhagens de distintos gêneros (*Adesmia*, *Dalbergia*, *Pterocarpus*) nas quais as flores não papilionadas evoluíram independentemente em alguns pequenos gêneros. Na linhagem *Pterocarpus*, três gêneros não papilionados com simetria radial (*Etaballia*, *Inocarpus*, *Riedeliella*) têm como grupo-irmão gêneros papilionados (*Pterocarpus*, *Tipuana* *Discolobium*), respectivamente (Klitgaard et al. 2012; Cardoso et al. 2013). Assim, neste estudo considerando a proximidade filogenética de *Discolobium* e *Riedeliella*, bem como a premência de dados sobre a polinização de flores não papilionadas com simetria radial (Cardoso et al. 2013). Nós investigamos a morfologia e a biologia floral, os visitantes florais/polinizadores e o sistema de reprodução e polinização de *Discolobium pulchellum* e *Riedeliella graciliflora* a fim de verificar se as flores e a polinização destas espécies são de fato “especializadas” ou “generalistas”, respectivamente. Para tanto, vamos responder as seguintes questões: (i) em que diferem, fenotipicamente as unidades de polinização (*sensu* Faegri e van der Pijl 1979) de *D. pulchellum* e *R. graciliflora* e como restringem o acesso dos visitantes ao(s) recurso(s) floral(is)? (ii) quem visita e quem poliniza as flores de ambas as espécies? (iii) qual(is) o(s) principal(is) polinizador(es), considerando o sistema de reprodução da espécie, o comportamento de visita intrafloral e/ou de estratégia de forrageamento durante as visitas? Dessa forma, a partir de conhecimentos e observações prévias, nós esperamos que *Discolobium pulchellum* seja mais especialista do que *Riedeliella graciliflora* quando falamos em generalização/especialização ecológica, funcional e fenotípica.

## **Material e métodos**

## Área de estudo

O estudo foi realizado em duas áreas e períodos distintos: (i) para *D. pulchellum* foi desenvolvido de maio a setembro de 2016 em dez agrupamentos de plantas (~ 15 plantas por agrupamento) localizados próximos à Base de Estudos do Pantanal (BEP), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), situada em área denominada "Passo do Lontra", nas sub-regiões de Miranda e Abobral (19°34'39"S, 57°0'44"W), no Pantanal, Corumbá, MS (Fava et al. 2011) numa área de 21,5 ha; (ii) para *R. graciliflora* os dados foram coletados em remanescente urbano de cerrado incluído na Reserva de Patrimônio Natural da UFMS (20°27'S, 54°37'W), Campo Grande, MS, de dezembro/2010 a novembro/2011, com observações adicionais em dezembro/2015 e janeiro/2016. A área tem cerca de 40 ha e possui vegetação composta principalmente por Cerrado (Vilas Boas et al. 2013).

## Gêneros e espécies estudadas

*Discolobium* é gênero exclusivamente sul-americano e registrado na Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai e, no Brasil as espécies arbustivas e subarbustivas ocorrem em vegetação de Caatinga, Cerrado, Chaco e Pantanal, com predileção por áreas úmidas (Pott e Pott 2000). *Discolobium pulchellum* é subarbusto ereto, possui ampla área de distribuição com registros na Argentina, Paraguai e no Brasil, em áreas alagáveis no Pantanal e na região chaquenha, em floresta tropical ombrófila aluvial, vegetação herbácea de altura média.

*Riedeliella* é exclusivo do sudeste da América do Sul, com três espécies (*R. graciliflora*, *R. magalhaesi* e *R. sessiliflora*) de arbustos eretos (*R. graciliflora*) ou semiescandentes (todas) e ocorrentes no Paraguai e Brasil, onde é encontrado em vários Estados (Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e em diversos tipos de vegetação como Cerrado (*R. graciliflora*), Caatinga e Matas ciliares (Lima e Vaz 1984). *Riedeliella graciliflora* é a espécie com distribuição mais ampla e ocorre em campos limpos,

Cerrados e Matas Ciliares do Centro-Oeste, Minas Gerais e São Paulo e em Caatingas do sudoeste da Bahia. É arbusto ereto, pouco ramificado ou semiescandente (Lima e Vaz 1984).

### **Morfologia e biologia floral**

Foram anotadas informações sobre o tipo e a disposição das inflorescências nas plantas e quantificado (média e desvio padrão) o número de botões e flores por inflorescência e de flores abertas por inflorescência e por planta. Registros sobre a flor, tais como forma (zigomorfa ou actinomorfa), morfometria e coloração das partes florais, percepção de odor, localização e tipo de recurso oferecido aos visitantes foram registrados no campo e/ou laboratório a partir de 30 flores frescas (uma por inflorescência por planta). A viabilidade do pólen foi estimada pela coloração com carmim acético (Dafni 1992) a partir de flores coletadas em pré-antese (n = 15 flores de inflorescências em manchas distintas). Para cada flor, foram quantificados (média e desvio padrão) 200 grãos de pólen/lâmina misturando-se os grãos de todas as anteras. A receptividade do estigma foi verificada no campo e/ou laboratório através da presença de exsudados na superfície estigmática (Dafni 1992). O volume acumulado e a concentração de néctar (média e desvio padrão) nas flores de *D. pulchellum* foram verificados utilizando microsseringa graduada (10µl) e refratômetro de bolso digital (0+53 Brix, modelo Pocket Pal-1 Atago), respectivamente em flores ensacadas na pré-antese (n = 30 flores, duas por inflorescência por planta). *Riedeliella graciliflora* não produz néctar. A longevidade floral foi estudada em flores marcadas na pré-antese (n = 15, uma por planta) e acompanhadas até a murcha. Material testemunho de *D. pulchellum* (CGMS 56500) e *R. graciliflora* (CGMS 51785) foi coletado, herborizado e depositado no Herbário CGMS.

### **Sistema reprodutivo**

No estudo do sistema reprodutivo, foram realizados tratamentos de autopolinização espontânea e manual, polinização cruzada a partir de flores ensacadas na pré-antese e não emasculadas. Adicionalmente, foram marcadas flores não ensacadas, acessíveis aos visitantes florais, para verificar o percentual de frutificação em condições naturais (polinização aberta ou controle). Após 30 dias foi registrado o percentual de frutos formados. A partir dos resultados obtidos foram calculados os índices de autofertilidade (IAF = porcentagem de frutificação após autopolinização espontânea dividida pela porcentagem de frutificação após polinização cruzada), autoincompatibilidade (ISI = porcentagem de frutificação após autopolinização manual dividido pela porcentagem de frutificação após polinização cruzada) e eficácia reprodutiva (RE = porcentagem de frutificação em condições naturais dividida pela porcentagem de frutificação após a polinização cruzada) (Zapata e Arroyo 1978, Lloyd e Schoen 1992). Consideramos a população auto infértil com valores de IAF < 0,30, parcialmente auto fértil com valores de IAF  $\geq$  0,30 até 0,6 e como auto fértil com valores de > 0,6 (Lloyd e Schoen 1992). A população foi considerada auto compatível com valores de ISI = 1, parcialmente compatível com ISI  $\geq$  0,2 a < 1 e auto incompatível com ISI  $\leq$  0,2 (modificado de Zapata e Arroyo 1978).

### **Visitantes florais**

Para *D. pulchellum*, as observações foram feitas em dez agrupamentos, de maio a setembro de 2016 (2–3 dias por mês), entre 05h00–11h00 (72 horas), com observações eventuais após este horário até aproximadamente às 17h00 (15 horas), totalizando 87 horas de observação. Em *R. graciliflora*, a observação de visitantes florais foi realizada em seis agrupamentos de novembro e dezembro/2010, entre 07h00–14h00, totalizando 21 horas de observação.

O comportamento de visita dos animais às flores foi registrado por meio de observações visuais diretas, à vista desarmada, com auxílio de filmagens e/ou fotografias. Foi anotado o

tipo de visitante, o horário de chegada do mesmo à planta e a frequência de visita na planta (i.e., número total de visitas registradas divididas pelo tempo total de observação). Como visita entende-se o período entre a chegada ou (novo) avistamento do visitante até a saída/perda de avistamento do visitante floral da planta focal, durante o qual as flores foram continuamente visitadas. A composição de visitantes entre os agrupamentos também foi analisada. Quando possível, os insetos foram coletados, congelados, medidos, alfinetados, etiquetados e enviados a especialistas para identificação taxonômica.

### **Análise de dados**

O teste exato de Fisher com nível de significância de 5% (Zar 2010) foi utilizado para verificar se ocorreu diferença no diâmetro das flores, na frutificação entre os tratamentos de sistema de reprodução e a frequência de visita dos visitantes florais em cada agrupamento. Em cada um dos aspectos analisados foi feita a correção do valor de  $p$  adotado através da correção de Bonferroni, cujo valor de  $p$  de 0,05 é dividido pelo número de hipóteses. Para o diâmetro das flores o valor de  $p$  adotado foi de  $(0,05/2)$  0,025; para os tratamentos do sistema de reprodução  $(0,05/4)$  0,0125; e para a frequência de visita dos visitantes florais  $(0,05/7)$  0,007 para *D. pulchellum* e  $(0,05/5)$  0,01 para *R. graciliflora*.

A visualização do forrageio dos visitantes florais de *D. pulchellum* entre os agrupamentos amostrados (e com diferente número de flores) foi possível através da construção de uma rede de interações através de matriz ponderada (com frequência de visitas entre agrupamentos) utilizando o programa Pajek 4.10 (Mrvar e Batagelj 2016), além da composição de espécies de visitantes florais similares entre os agrupamentos.

### **Classificação quanto ao modo de polinização**



A classificação do modo de polinização, especialista ou generalista, pode ocorrer de três formas de acordo com Ollerton et al. 2007. A especialização ecológica refere-se ao número de polinizadores efetivos com que a planta interage, ou seja, a quantidade de espécies envolvidas na relação. Em um nível mais amplo, a especialização funcional refere-se ao grupo de polinizadores (por exemplo, beija-flores ou abelhas) que realizam o mesmo serviço na planta. A especialização morfológica ou fenotípica refere-se às adaptações exibidas por uma flor (por exemplo, zigomorfia, recompensa(s) especializada(s), tempo/período de antese, etc) e está intimamente relacionada com a especialização funcional. A classificação em generalista ou especialista é exclusivamente quantitativa.

## **Resultados**

### **Morfologia e biologia floral**

As flores papilionadas de *D. pulchellum* estão reunidas em racemos simples, em número de três a quatro por planta, cuja raque mede 120 ( $\pm 15$ , média  $\pm$  desvio padrão, em todo o texto) cm. Os racemos portam  $20 \pm 4$  botões, que abrem dois a três por dia (Fig. 1A). Em *R. graciliflora*, as inflorescências são amplas, terminais e/ou axilares, paniculiformes (Lima e Vaz 1984) e podem atingir até um metro de comprimento, ficando bem evidentes acima da folhagem (Fig. 1E). Cada planta geralmente traz três a quatro panículas, formadas por  $44 \pm 60$  racemos espiciformes com  $80 \pm 12$  cm de comprimento e que possuem  $65 \pm 12$  botões (Fig. 1F).

Nas duas espécies as flores são pediceladas, pentâmeras, gamossépalas, dialipétalas, diplostêmones, hermafroditas e com antese diurna. As flores papilionadas de *D. pulchellum* são zigomorfas, nectaríferas, do tipo estandarte (*sensu* Faegri e van der Pijl 1979) (Fig. 1 A–B) e maiores ( $17,1 \pm 1,6$  mm de diâmetro) que as de *R. graciliflora* ( $7,8 \pm 0,7$  mm) ( $p = 0,03$ ), que são actinomorfas, poliníferas, abertas e do tipo pincel (*sensu* Faegri e van der Pijl

1979) (Fig. 1F–H). Em *D. pulchellum*, o cálice é verde, campanulado e envolve frouxamente a base da corola, que tem pétalas unguiculadas, amarelas, exceto as da quilha que são esverdeadas, e que ficam quase totalmente encobertas pelas asas que são amplas, pois têm parte do limbo expandido (Fig. 1B). No estandarte, a unguícula é canaliculada e na porção inferior do limbo ocorre uma mácula alaranjada delimitada por listras vináceas (Fig. 1B). As pétalas das asas e da quilha são auriculadas e as da quilha são dorsalmente conatas e livres na borda superior. A unguícula das asas não se sobrepõem e deixa uma ampla entrada de acesso à câmara nectarífera; as asas também possuem concavidade na face ventral do limbo de onde partem esculturas lunares (porção lamelada) (Fig. 1B). O cálice de *R. graciliflora* é creme, tomentoso e turbinado-campanulado e protege a base da corola que também tem pétalas unguiculadas, porém são similares entre si, brancas e rebatidas para trás, tornando a flor actinomorfa (Fig. 1F–H). O androceu de *D. pulchellum* possui estames diadelfos, heterodínamos, dispostos em duas falanges opostas, constituídas cada uma por quatro estames com o vexilar e o carenal livres (Neves 2012), formando uma bainha estaminal que mede  $11,9 \pm 1,6$  mm de comprimento. Na região basal do estame vexilar se forma uma base fenestrada, com duas aberturas. Cada abertura está situada ao lado da base do filete do estame vexilar, sendo lateralmente limitada pela margem da bainha estaminal. *Riedeliella graciliflora* tem androceu dialistêmones, isodínamos, com estames brancos que possuem  $4,7 \pm 0,6$  mm de comprimento e estão dispostos de tal forma que conferem aspecto de pincel à flor (Fig. 1F). As anteras em *D. pulchellum* são amarelas e basifixas, enquanto as de *R. graciliflora* são de cor creme, também basifixas e tem tecas divergentes; ambas as espécies produzem pólen com viabilidade elevada e similar:  $90 \pm 3,2\%$  e  $89 \pm 5,9\%$ , respectivamente. Nas duas espécies, o gineceu é estipitado, tem estigma puntiforme que atinge  $10,9 \pm 1,6$  mm (*D. pulchellum*) e  $4,7 \pm 0,4$  mm (*R. graciliflora*) de comprimento e três e dois óvulos no ovário, respectivamente, que em *D. pulchellum* é espiralado. O néctar em *D. pulchellum* é produzido em disco anelar

localizado na base do gineceu e fica acumulado na base da bainha estaminal que funciona como câmara nectarífera; o volume acumulado e a concentração de solutos no néctar foram  $8,8 \pm 0,9 \mu\text{l}$  e  $31,1 \pm 1,3\%$ , respectivamente.

As flores de *D. pulchellum* duram aproximadamente 11 horas, sendo que no botão em pré-antese as anteras estão fechadas, o estigma não está receptivo e provavelmente há néctar acumulado na câmara nectarífera, pois botões florais são visitados (ver adiante). Nas plantas amostradas desta espécie a antese é sincrônica e inicia por volta das 05h00, finalizando após cerca de uma hora, momento em que as anteras estão abertas. Por volta das 07h00 o estigma está receptivo e as flores emitem odor fracamente adocicado. Em torno das 11h00 a corola começa a fechar, porém entre 12h00–16h00 o estandarte permanece semi refletido ou semiaberto caracterizando fase aqui denominada “semi-fechada” (Fig. 1B), pois a flor ainda emite odor, há produção de néctar e ainda é visitada (ver adiante). Entre 16h00–17h00, o estandarte fecha totalmente, finalizando o processo de fechamento da flor (Fig. 1C). Após três dias, a corola cai e é possível observar crescimento do ovário, indicando possível início da formação do fruto.

Os racemos espiciformes de *R. graciliflora* abrem diariamente entre 15 e 18 flores (Fig. 1E–F). Nesta espécie, as flores duram de 2 a 3 dias (em torno de 32 horas), sendo que no botão em pré-antese as anteras estão fechadas e o estigma não está receptivo. A antese floral também foi relativamente sincrônica nas plantas amostradas, tendo início por volta das 05h00. Aproximadamente às 06h00 as anteras abrem (fase masculina da flor) e uma hora após (ca. 07h00) o estigma está receptivo (fase hermafrodita) e as flores começam a emitir intenso odor adocicado. Por volta das 14h00, geralmente não há mais pólen nas anteras, mas o estigma está receptivo (fase feminina) e há emissão de odor até aproximadamente às 13h00 do dia seguinte, quando as pétalas adquirem cor creme e caem depois de dois a três dias.

## Sistema reprodutivo

Ambas as espécies frutificaram após os tratamentos de autopolinização espontânea e manual, com percentuais similares (*D. pulchellum*) ou inferiores (*R. graciliflora*) aos obtidos após polinização cruzada e sob condições naturais (Tabela 1). Assim, a população estudada de *D. pulchellum* é autofértil e autocompatível (SC), enquanto a de *R. graciliflora* é auto infértil e parcialmente SC (Tabela 1). A eficiência reprodutiva (RE), ou seja, a quantidade de frutos formados após cada temporada de floração é próxima do máximo para ambas as espécies (Tabela 1).

O serviço de polinização de *D. pulchellum* é eficiente, pois o resultado do tratamento de polinização cruzada é igual ao tratamento controle. No entanto, a autocompatibilidade (SC) da espécie (tratamento de autopolinização espontânea igual ao de autopolinização manual) pode não ser relevante para a questão da especialização ou generalização, pois esta produz a mesma quantidade de frutos com ou sem a ação dos polinizadores (autopolinização espontânea igual à polinização cruzada e ao tratamento controle).

## Visitantes florais

As flores das duas espécies foram visitadas por abelhas Apidae de pequeno (< 1,2 mm de comprimento) (n = 4 spp.) e médio-grande porte ( $\geq 12$  mm) (n = 5 spp.) (*sensu* Frankie et al. 1983) (CTA na Tabela 2) que coletaram néctar em *D. pulchellum* e pólen em *R. graciliflora*. Além das abelhas, uma espécie de borboleta (*Urbanus* cf. *procne*) também foi registrada nas flores de *D. pulchellum*. Em *D. pulchellum*, predominou abelhas de médio-grande porte (n = 5 spp.) em relação às de pequeno porte (*Tetragonisca angustula*, *Trigona spinipes*) e que apresentaram maior frequência de visita, com destaque para o gênero *Bombus* com três espécies amostradas (Tabela 2). Dentre as cinco espécies registradas nas flores de *R. graciliflora*, duas são de médio-grande porte (*Apis mellifera*, *Centris fuscata*) e as demais de

pequeno porte (*Leurotrigona muelleri*, *Paratrigona lineata*, *T. angustula*), todas com frequência de visita similar (Tabela 2).

No Pantanal, as primeiras visitas às flores de *D. pulchellum* iniciaram a partir das 07h00 e ocorreram principalmente no período matutino até aproximadamente 12h00 para a maioria dos visitantes florais, com exceção das espécies de *Bombus* que também visitaram flores na fase “semi fechada” e também com a corola totalmente fechada entre 12h00-16h00 (Fig. 1C–D). Ao visitar as flores na fase “aberta” as abelhas de maior porte (*Bombus* spp., *C. fuscata*) pousavam sobre as asas/quilha apoiando geralmente o segundo par de pernas na porção côncava e lamelada das asas (Fig. 1D). Em seguida, empurravam o estandarte com a cabeça e inseriam as peças bucais provavelmente na abertura fenestrada da bainha estaminal, acessando a câmara nectarífera. Neste momento, ou simultaneamente, ocorria o deslocamento para baixo das asas e da quilha que, quando pressionada, possibilitava a exteriorização das anteras e do estigma, os quais contavam a porção ventral das abelhas (Fig. 1D). Após alguns segundos (4–16s), as abelhas recuavam e saíam da flor, podendo visitar outras flores da mesma (*C. fuscata*) ou de outra inflorescência (*Bombus* spp.). Por fim, abandonavam a planta, retornando em intervalos variáveis de 40-60 minutos. *Bombus* spp. também visitaram flores “semi fechadas” de modo similar ao da observado nas flores abertas, bem como flores fechadas. Neste último caso, pairavam defronte a flor e inseriam a probóscide no espaço entre o estandarte e asas-quilha, acessando desta forma a câmara nectarífera. (Fig. 1C).

*Apis mellifera* na maioria das visitas pousava sobre uma das asas e inseria a probóscide na base dos elementos da corola para alcançar a câmara nectarífera, sem contatar anteras/estigma devido a limitações morfológicas (tamanho (Tabela 2), peso e força de execução), pois não promovia o acionamento da quilha. No início das visitas, *A. mellifera* eventualmente visitava as flores de modo semelhante ao descrito para *C. fuscata* e *Bombus* spp. Também visitou botões em pré-antese e diversas vezes indivíduos desta espécie exótica

apresentaram comportamento agonístico com *Bombus* spp. expulsando as abelhas maiores da planta visitada.

*Trigona spinipes* coletava néctar de dois modos: pousava sobre as asas e quilha inserindo as peças bucais na entrada da câmara nectarífera, sem acionar o mecanismo de liberação dos órgãos sexuais ou perfurava a base do cálice, acessando desta forma o néctar da câmara nectarífera.

*Tetragonisca angustula* pousava junto à base do estandarte, sobre a entrada da câmara nectarífera, de onde acessava o néctar, sem tocar anteras-estigma. Geralmente permanecia 15–20 segundos por flor, após este tempo voava e visitava flores da mesma inflorescência ou de outra inflorescência próxima, permanecendo muito tempo na planta (mancha) amostrada.

A única visita de *U. cf. procne* a borboleta pousou nas asas, inseriu a probóscide no espaço entre estandarte e quilha acessando o néctar na câmara nectarífera, sem tocar nas estruturas sexuais. Após 10–15 segundos abandonou a flor, visitando outras flores de inflorescências próximas.

A maioria das espécies de visitantes foi registrada forrageando em mais de um agrupamento (Fig. 2) (exceto *U. cf. procne*), próximos ou distantes entre si (Fig. 3). A composição das espécies de visitantes florais entre os agrupamentos de *D. pulchellum* é mostrada pelo cluster na Figura 3, bem como a similaridade na composição dos agrupamentos. Sendo assim, *A. mellifera*, *B. morio* e *B. pauloensis* amostradas em seis e quatro agrupamentos, respectivamente. *Bombus* sp. e *C. fuscata* forragearam em dois agrupamentos e *T. spinipes* em três, todos relativamente distantes, diferindo de *T. angustula* registrada em três manchas mais próximas (Fig. 2). Com efeito, agrupamentos próximos tiveram composição de visitantes florais mais semelhantes em relação aos agrupamentos mais distantes (Fig. 3).

No remanescente de Cerrado, *C. fuscata* coletou pólen por vibração (Buchmann 1985; Oliveira e Sazima 1990) nas flores de *R. graciliflora*, “abraçando” o feixe de estames e contatando anteras e estigma com a porção ventral do corpo. Após a coleta, a abelha saía da flor e em voo limpava o corpo com auxílio das pernas anteriores e medianas e transferia o pólen para as pernas posteriores. A seguir, visitava outras flores da inflorescência e da planta abandonando o local e retornando após tempo variável. As demais espécies de visitantes pousavam sobre a flor e coletavam pólen com o primeiro e/ou segundo pares de pernas geralmente contatando anteras (todas) e estigma (*Tetragonisca angustula* somente às vezes) com a porção ventral do corpo (Fig. 1G–H). A seguir, caminhavam pelas flores e visitavam outras flores da inflorescência, ou da planta, e, após tempo variável abandonavam o local, exceto *Apis mellifera* que visitava diversas vezes as mesmas inflorescências da planta.

### **Classificação quanto ao modo de polinização**

*Discolobium pulchellum* é especializada fenotipicamente (zigomorfa, nectarífera, tipo estandarte e mecanismo de disparo) que está relacionada com a especialização funcional por abelhas de grande porte (*Bombus* e *C. fuscata*), porém são ecologicamente generalistas porque recebe visitas de abelhas e borboletas. Enquanto *R. graciliflora* é fenotipicamente (polinífera, tipo pincel) e funcionalmente (apenas *C. fuscata*) especializada diferentemente do que se pensava. Além disso, recebe visita apenas de abelhas, o que confere também uma especialização ecológica.

### **Discussão**

Em termos de polinização, a “aparente generalização” de uma espécie se relaciona ao número de espécies visitantes florais que interagem com suas flores, polinizadores ou não. A generalização aparente é moderada pelas influências fenotípicas da flor, ou seja, pelo conjunto

de características morfológicas (tamanho, forma, cor), funcionais (e.g. período de antese, modo de polinização), bioquímicas (odor, recurso) e pelas respostas comportamentais dos visitantes florais, que determinam o ajuste entre a flor e os visitantes. Estas considerações tornam possível a distinção entre os visitantes que não efetuam a polinização (visitantes ineficientes) e os que de fato polinizam. Portanto, a generalização funcional refere-se ao número de polinizadores potencialmente eficientes ou eficazes com os quais a espécie vegetal poderia interagir (Ollerton et al. 2007 e referências).

As inflorescências e flores de *D. pulchellum* e *R. graciliflora* diferem fenotipicamente em diversos aspectos morfológicos, funcionais e bioquímicos (Tabela 3). Os racemos apicais de *D. pulchellum* trazem vistosas flores amarelas e papilionadas, nectaríferas, zigomorfas, tipo estandarte, com o principal recurso floral (néctar) não exposto e são maiores que as flores de *R. graciliflora*, que são brancas, poliníferas, radiais, tipo pincel, com o recurso (pólen) facilmente acessível, uma vez que as anteras são rimosas. Além disso, em *R. graciliflora* as flores estão reunidas em inflorescências congestas (racemos espiciformes) agrupadas em amplas panículas bastante conspícuas e acessíveis aos visitantes florais. Tais diferenças determinam modos diversos de atração e de funcionamento floral, pois enquanto nas flores tipo pincel de *R. graciliflora* a atração visual, o local de pouso e de deposição de pólen no corpo do polinizador e o modo de exposição do recurso são difusos e, à primeira vista não há nenhum guia visual, nas flores tipo estandarte de *D. pulchellum* há diversos atrativos e guias visuais (e.g. zigomorfia, cor vistosa, mácula do estandarte) e local específico para pouso (asas-quilha) e contato dos órgãos sexuais no corpo do animal (esternotrobia), além de elaborado mecanismo de exposição dos órgãos sexuais durante a visita (Faegri e van der Pijl 1979). Entretanto as flores de ambas as espécies apresentam semelhanças como antese diurna, com cores claras e presença de plataforma de pouso, odor adocicado, atributos que as enquadram nas flores polinizadas por abelhas (*sensu* Faegri e van der Pijl 1979). A maioria



(*D. pulchellum*) ou todos os visitantes florais amostrados (*R. graciliflora*) nas duas espécies são abelhas de pequeno ou médio-grande porte.

Assim, sob o ponto de vista morfológico/fenotípico, as flores de *D. pulchellum* mostram maior especialização que as de *R. graciliflora*. Entretanto, sob o ponto de vista funcional das flores, as duas espécies mostram a mesma especialização. Em *R. graciliflora*, a especialização fenotípica reside no fato das flores serem poliníferas, do tipo *Papaver* (com poliandria e pólen exposto) e serem visitadas e polinizadas exclusivamente por abelhas. Segundo Vogel (1978), no tipo *Papaver*, o pólen geralmente é coletado por abelhas fêmeas, que o utilizam na nutrição da prole, sendo considerado um tipo floral especializado à polinização melitófila (Vogel 1978). A especialização das flores de *D. pulchellum* reside no fenótipo floral e no mecanismo de polinização ou disparo, que exige comportamento intrafloral adequado do polinizador para acionar este mecanismo. Nesta espécie, as flores apresentam mecanismo valvular, no qual a borda superior da quilha é totalmente livre e quando a quilha é movida para baixo pelo polinizador, o estigma e as anteras ficam expostos, retornando à posição original dentro da quilha após a visita; neste caso o pólen é liberado gradativamente, durante inúmeras visitas (Endress 1994; Aronne et al. 2012 e referências). Portanto, em *D. pulchellum*, como na maioria dos gêneros de Papilionoideae com flores papilionadas (Endress 1994), a liberação das estruturas sexuais da quilha é resultante do posicionamento adequado do visitante floral, que precisa ter força e habilidade para pressionar o estandarte e forçar para baixo as alas e as pétalas da quilha para acessar a câmara nectarífera (Endress 1994; Westerkamp 1997; Oliveira e Sigrist 2008). Em *D. pulchellum*, outra especialização seria a concavidade e a porção lamelada das asas que parece servir como ponto de apoio para os polinizadores durante a visita, sendo a ocorrência de “esculturação” na superfície das asas caráter comum em Papilionoideae (Oliveira e Sigrist 2008). Entretanto, nesta espécie esta organização floral elaborada limitou, porém não impediu visitas ilegítimas à flor (ver adiante).

Flores que possuem partes móveis, como as papilionadas, devem ser manipuladas ativamente pelos visitantes para que a polinização ocorra. No entanto, apenas o peso dos polinizadores não é suficiente para desencadear o mecanismo. Conforme Faegri e van der Pijl (1966) é necessário exercer um poder muscular adicional. Essa força necessária pode servir para filtrar os visitantes que não são adequados para a polinização eficiente (Moré et al. 2007). Nas flores de *D. pulchellum*, as estruturas reprodutivas são escondidas pela quilha e os polinizadores obtém acesso à recompensa pressionando de forma lateral as asas e ventralmente a quilha, que são móveis, fazendo com que baixem. Assim, as estruturas de reprodução ficam expostas e contatam o ventre do polinizador. Tal evento está diretamente ligado à especialização funcional e morfológica nessa interação planta-polinizador.

Neste estudo, os polinizadores efetivos, na polinização de ambas as espécies, foram abelhas de grande porte *Bombus* spp. (*D. pulchellum*) e *Centris fuscata* (ambas as espécies), que visitaram legitimamente as flores, acionando adequadamente o mecanismo de disparo em *D. pulchellum* ou coletando pólen por vibração em *R. graciliflora*. Além disso, estas abelhas apresentam forrageio em linha de captura (i.e. visitas sequenciais e repetidas aos locais de alimentação), que favorece a polinização cruzada (Ohashi e Thomson 2009), característica especialmente importante para *R. graciliflora* que é auto-infértil, ou seja, polinizador-dependente e parcialmente autocompatível, apresentando maior frutificação após polinização cruzada. Neste aspecto as duas espécies dependem diferentemente dos polinizadores, pois *D. pulchellum* é autocompatível e autofértil, capaz de autopolinização espontânea, favorecida provavelmente pela proximidade entre anteras e estigma. Em *R. graciliflora*, a breve protandria pode estar prevenindo a autofertilidade, pois nesta espécie não ocorreu hercogamia. Entretanto autocompatibilidade predomina em Papilionoideae (Arroyo 1981; Franco 1995).

Abelhas de médio-grande porte dos gêneros amostrados (*Bombus*, *Centris*) ou de outros gêneros (e.g. *Euglossa*, *Eulaema*, *Xylocopa*) são comumente relatadas como importantes ou

principais polinizadores de membros de Papilionoideae com flores nectaríferas papilionadas (e.g. Endress 1994 e referências; Oliveira e Sigrist 2008; Aronne et al. 2012; Etcheverry et al. 2008; Alemán et al. 2014) e não papilionadas (*Amorpha canescens*) (Slagle e Hendrix 2009), bem como flores não papilionadas e poliníferas, nas quais as abelhas também realizam polinização por vibração (*Swartzia pickelli*, *S. apetala*) (Lopes e Machado 1996; Moço e Pinheiro 1999, respectivamente). O uso de vibração floral para coletar pólen em espécies com anteras não poricidas é registrado em diversas famílias (e.g. Buchmann 1985; Oliveira e Sazima 1990; Sigrist e Sazima 2004) e embora considerado inicialmente raro e ocasional (Buchmann 1985) é o modo mais eficaz e rápido de coletar pólen em flores com numerosos estames e com anteras pequenas e rimosas (Oliveira e Sazima 1990) como as de *R. graciliflora*. Nesta espécie, as demais abelhas (80% dos visitantes) podem potencialmente polinizar as flores, pois durante as visitas recebem (contatam anteras) e doam pólen (tocam estigma) (exceto talvez *T. angustula*). Entretanto, o comportamento de forrageio destas abelhas favorece a autopolinização e a transferência de pólen entre flores da mesma inflorescência ou planta, fato que pode comprometer o sucesso reprodutivo de *R. graciliflora*, sendo sob este ponto de vista menos eficientes que *C. fuscata*.

Os outros visitantes florais de *D. pulchellum* (50%) foram pilhadores de néctar, pois não acionaram o mecanismo de disparo e, portanto não contatam anteras-estigma, além de promoverem dano às flores (*T. spinipes*) e possivelmente comprometerem o forrageio dos polinizadores, como no caso das interações agonísticas entre *A. mellifera* e *Bombus* spp. Desta forma, o elaborado fenótipo floral de *D. pulchellum* parece não restringir totalmente o acesso ao néctar por parte de visitantes ilegítimos e isto pode ser devido à ampla abertura que ocorre na entrada da câmara nectarífera. Neste sentido as flores especializadas de *D. pulchellum* não seriam menos restritivas ao recurso floral que as “generalistas” de *R. graciliflora*. No entanto,

ainda pode funcionar como mecanismo de economia de pólen ao depositar apenas em abelhas que são “melhores” polinizadores.

De qualquer modo consideramos que as flores das duas espécies são funcionalmente especializadas (*sensu* Ollerton et al. 2007) pois os principais polinizadores foram abelhas de grande porte que forragearam em linha de captura. Se levarmos em conta o número de principais polinizadores (abelhas grandes) *D. pulchellum* seria ecologicamente generalista, pois apresentou maior diversidade (quatro espécies de abelhas pertencentes a dois gêneros) que *R. graciliflora* (uma espécie). Por outro lado, *R. graciliflora* será ecologicamente generalista, se considerarmos também como polinizadores efetivos as quatro espécies de abelhas não vibradoras, estudo que será efetuado *a posteriori*.

Nosso estudo traz dados inéditos sobre o sistema de reprodução e polinização no gênero *Riedeliella* e, por extensão, para espécies com flores não papilionadas com simetria radial e reforça a necessidade de estudos deste tipo com representantes não papilionados dos clados iniciais de Papilionoideae. Aqui mostramos que no par *D. pulchellum*–*R. graciliflora*, representando aqui o clado *Discolobium*–*Riedeliella* (Cardoso et al. 2013), a “reversão” da estrutura floral mais simples ou a condição morfológicamente generalista (não papilionada, aberta, com simetria radial) como a observada em *R. graciliflora*, não significou perda de especialização na polinização, seja ela funcional ou ecológica. Neste caso, representou mudança na especialização, como por exemplo, de flor papilionada, nectarífera e com mecanismo de polinização valvular (*D. pulchellum*) para flor não papilionada, polinífera e com polinização vibrátil (*R. graciliflora*), porém ambas polinizadas por abelhas de (médio) grande porte.

O grau de generalização e especialização dos sistemas de polinização tem sido instrumento de intensas discussões (Waser et al. 1996, Ollerton et al. 2015, Aguilar et al. 2015, Britto et al. 2017) sob a constante hipótese de especialização floral para o polinizador mais efetivo

(Stebbins 1970). Perante a ideia de que sistemas de polinização especializados poderia ser uma barreira evolutiva e a transição de sistemas generalistas para especialistas são mais frequentes do que o contrário (Tripp e Manos 2008), a ideia foi parcialmente corroborada (Armbruster 1988, Wilson et al. 2007, Tripp e Manos 2008, Smith 2010), pois a maioria das transições relatadas são entre sistemas funcionalmente especializados. Armbruster e Baldwin (1998), Martén-Rodríguez et al. (2010) e Britto et al. (2016) são as únicas situações suportadas por filogenia descritas em que a transição foi de sistemas especializados para generalizados. Para *R. graciliflora* existe a evolução de uma morfologia mais generalizada dentro de um clado especializado, no entanto, a perda de néctar como recurso não leva a maior generalização.

**Agradecimentos** Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela bolsa concedida à primeira autora, Laboratório de Polinização, Reprodução e Fenologia de Plantas da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul pelo apoio logístico.

### **Referências Bibliográficas**

- Agostini K, Sazima M, Galetto L (2011) Nectar production dynamics and sugar composition in two *Mucuna* species (Leguminosae, Faboideae) with different specialized pollinators. *Naturwissenschaften* 98:933–942
- Aguilar R, Martén-Rodríguez S, Avila-Sakar G, Ashworth L, Lopezaraiza-Mikel M, Quesada M (2015) A global review of pollination syndromes: a response to Ollerton et al. 2015. *J Pollinat Ecol* 17:126–128

- Alemán M, Figueroa-Fleming T, Etcheverry A, Sühring S, Ortega-Baes P (2014) The explosive pollination mechanism in Papilionoideae (Leguminosae): an analyses with three *Desmodium* species. *Pl Syst Evol* 300:177–186. doi:[10.1007/s00606-013-0869-8](https://doi.org/10.1007/s00606-013-0869-8)
- Armbruster WS (1988) Multilevel comparative analysis of the morphology, function, and evolution of Dalechampia blossoms. *Ecology* 69:1746–1761. doi:[10.2307/1941153](https://doi.org/10.2307/1941153)
- Armbruster WS, Baldwin BG (1998) Switch from specialized to generalized pollination. *Nature* 394:632. doi:[10.1038/29210](https://doi.org/10.1038/29210)
- Aronne G, Giovanetti M, De Micco V (2012) Traits and pollination mechanisms of *Coronilla emerus* L. flowers (Fabaceae). *Sci W J*. doi:[10.1100/2012/381575](https://doi.org/10.1100/2012/381575)
- Arroyo MTK (1981) Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In: Polhill RM, Raven PH (eds) *Advances in legume systematics (part II)*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp 723–769
- Brito VLG, Fendrich TG, Smidt EC, Varassin IG, Goldenberg R (2016) Shifts from specialised to generalised pollination systems in Miconieae (Melastomataceae) and their relation with anther morphology and seed number. *Pl Biol* 18:585–593. doi:[10.1111/plb.12432](https://doi.org/10.1111/plb.12432)
- Brito, V. L., Rech, A. R., Ollerton, J., & Sazima, M (2017) Nectar production, reproductive success and the evolution of generalised pollination within a specialised pollen-rewarding plant family: a case study using *Miconia theizans*. *Pl Syst Evol*. 1–10
- Bruneau A (1997) Evolution and homology of bird pollination syndromes in *Erythrina* (Leguminosae). *Am J Bot* 84:54–71
- Buchmann SL (1983) Buzz pollination in angiosperms. In: Jones CE, Little RJ. *Handbook of experimental pollination biology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 73–113
- Buchmann SL (1985) Bees use vibration to aid pollen collection from non-poricidal flowers. *J Kansas Ent Soc* 58:517–525

- Cane JH (2006) An evaluation of pollination mechanisms for purple prairie-clover, *Dalea purpurea* (Fabaceae: Amorphaeae). *Am Midl Nat* 156:193–197. doi:[10.1674/0003](https://doi.org/10.1674/0003)
- Cardoso D, Pennington RT, Queiroz LP, Boatwright JS, Van Wyk BE, Wojciechowski MF, Lavin M (2013) Reconstructing the deep-branching relationships of the papilionoid legumes. *S. African J. Bot* 89:58–75. doi:[10.1016/j.sajb.2013.05.001](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.05.001)
- Dafni A (1992) *Pollination ecology: a practical approach*, University Press, New York
- Dutra VF, Garcia FCP, Lima HC (2009) Papilionoideae (Leguminosae) nos campos rupestres do Parque Estadual do Itacolomi, MG, Brasil. *Acta Bot. Bras* 23:145–159
- Endress PK (1994) Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. *Pl. Syst. Evol* 192:79–97
- Etcheverry AV, Alemán CET (2005) Reproductive biology of *Erythrina falcata* (Fabaceae: Papilionoideae). *Biotropica* 37:54–63
- Etcheverry AV, Alemán MM, Figueroa-Fleming T (2008) Flower morphology, pollination biology and mating system of the complex flower of *Vigna caracalla* (Fabaceae: Papilionoideae). *Ann. Bot* 102:305–316
- Etcheverry AV, Alemán MM, Figueroa-Fleming T, Gomez CA, Lopez-Spahr D (2012) Anther-stigma separation in *Desmodium* species (Papilionoideae-Fabaceae) from Northwestern Argentina. *Acta Hort* 918:183–188
- Faegri K, van der Pijl L (1966) *The principles of pollination ecology*. Perg. Press Canada. 3
- Faegri K, van der Pijl L (1979) *The Principals of Pollination Ecology*. Perg. Press Oxford. 3
- Franco ALM (1995) *Ecologia da polinização e biologia reprodutiva de sete espécies de Phaseoleae (Fabaceae)*. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil
- Frankie GW, Haber WA, Opler PA, Bawa KS (1983) Characteristics and organization of the large bee pollination system in the Costa Rican dry forest. In: Jones CE, Little RJ (eds)

- Handbook of experimental pollination biology. Van Nostrand Reinhold Inc., New York, pp 411–447
- Hopkins HCF, Hopkins MJG (1993) Rediscovery of *Mucuna macropoda* (Leguminosae: Papilionoideae), and its pollination by bats in Papua New Guinea. *Kew Bull* 48:297–305
- Ireland HE, Kite GC, Veitch NC, Chase MW, Schrire B, Lavin M, Pennington R (2010) Biogeographical, ecological and morphological structure in a phylogenetic analysis of *Ateleia* (Swartzieae, Fabaceae) derived from combined molecular, morphological and chemical data. *Bot J Linn Soc* 162:39–53
- Kelt DA (1997) Floral color change in *Errazurizia megacarpa*, a Sonoran desert shrub. *Canadian J Bot* 75:955–959
- Klitgaard BB, Forest F, Booth TJ, Saslis-Lagoudakis CH (2012) A detailed investigation of the *Pterocarpus* clade (Leguminosae: Dalbergieae): *Etaballia* with radially symmetrical flowers is nested within the papilionoid-flowered *Pterocarpus*. *S African J Bot* 89:128–142. doi:[10.1016/j.sajb.2013.07.006](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.07.006)
- Leppik EE (1966) Floral evolution and pollination in the Leguminosae. *Ann Bot Fenn* 3:299–308. <http://www.jstor.org/stable/23724265>
- Lewis G, Knudsen JT, Bente B, Pennington RT (2003) The floral scent of *Cyathostegia mathewsii* (Leguminosae, Papilionoideae) and preliminary observations on reproductive biology. *Bioc Syst Evol* 31:951–962
- Lima HC, Vaz AMSF (1984) Revisão taxonômica do gênero *Riedeliella* Harms (Leguminosae – Faboideae). *Rodriguésia* 36:9–16
- Linares LJ, Koptur S (2010) Floral biology and breeding system of the crenulate leadplant, *Amorpha herbacea* var. *crenulata*, an endangered South Florida pine rockland endemic. *Nat Areas J* 30:138–147. doi: [10.3375/043.030.0202](https://doi.org/10.3375/043.030.0202)



- Lloyd DG, Schoen DJ (1992) Self- and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *Inter J Pl Sci* 358–369
- Lopes AVF, Machado I (1996) Biologia floral de *Swartzia pickelii* Killip ex Ducke e sua polinização por *Eulaema* spp. (Apidae – Euglossine). *Rev Bras Bot* 19:17–24.  
<https://www.researchgate.net/publication/259101972>
- LPWG (Legume Phylogeny Working Group) (2013) Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon* 62:217–248
- LPWG (Legume Phylogeny Working Group) (2017) A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon* 66: 44–77.  
doi: <https://doi.org/10.12705/661.3>
- Martén-Rodríguez S, Fenster CB, Agnarsson I, Skog LE, Zimmer EA (2010) Evolutionary breakdown of pollination specialization in a Caribbean plant radiation. *New Phytol* 188:403–417. doi:[10.1111/j.1469-8137.2010.03330.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03330.x)
- Moço MCC, Pinheiro MCB (1999) Pollination ecology of *Swartzia apetala* Raddi var. *apetala* (Leguminosae – Papilionoideae). *Brazilian Arch. Bio. Tec.* 42: 415–423
- Moré M, Sérsic AN, Cocucci AA (2007) Restriction of pollinator assemblage through flower length and width in three long-tongued hawkmoth-pollinated species of *Mandevilla* (Apocynaceae, Apocynoideae). *Ann. Missouri Bot. Garden.* 94: 487–506
- Mrvar A, Batagelj V (2016) Analysis and visualization of large networks with program package Pajek. *Comp Adap Syst Mod* 4:1–8
- Ohashi K, Thomson JD (2009) Trapline foraging by pollinators: its ontogeny, economics and possible consequences for plants. *Ann Bot* 103:1365–1378
- Olesen JM, Dupont YL, Ehlers BK, Hansen DM (2007) The openness of a flower and its number of flower-visitor species. *Taxon* 56:729–736

- Oliveira PEAM, Sazima M (1990) Pollination biology of two species of *Kielmeyera* (Guttiferae) from Brazilian Cerrado vegetation. *Pl Syst Evol* 172:35–49
- Oliveira MIB, Sigrist MR (2008) Fenologia reprodutiva, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae – Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Bras Bot* 31:195–207
- Ollerton J, Killick A, Lamborn E, Watts S, Whiston M (2007) Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. *Taxon* 56:717–728
- Ollerton J, Rech AR, Waser NM, Price MV (2015) Using the literature to test pollination syndromes—some methodological cautions. *J Pollinat Ecol* 16:101–107
- Pott VJ, Pott A (2000) Plantas Aquáticas do Pantanal. Embrapa Comunicação e Transferência de Tecnologia
- Ramirez N (1995) Revisión Taxonómica del Genero *Alexa* Moq. (Fabaceae, Sophoreae). *Ann Missouri Bot Gard* 82:549–569
- Smith SD (2010) Using phylogenetics to detect pollinator-mediated floral evolution. *New Phytol* 188:354–363. doi:[10.1111/j.1469-8137.2010.03292.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03292.x)
- Snak C, Lewis GP, Rocha DE, Queiroz LP (2015) A new species of *Canavalia* (Leguminosae, Papilionoideae) from Brazil with a specialized corolla suggesting bird pollination. *Phytotaxa* 207:115–122
- Sigrist MR, Sazima M (2004) Pollination and reproductive biology of twelve species of neotropical Malpighiaceae: stigma morphology and its implications for the breeding system. *Ann Bot* 94:33–41
- Slagle MW, Hendrix SD (2009) Reproduction of *Amorpha canescens* (Fabaceae) and diversity of its bee community in a fragmented landscape. *Oecologia* 161:813–823

- Tripp EA, Manos PS (2008) Is floral specialization an evolutionary dead-end? Pollination system transitions in *Ruellia* (Acanthaceae). *Evolution* 62:1712–1737. doi:[10.1111/j.1558-5646.2008.00398.x](https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00398.x)
- Tucker SC (1990) Loss of floral organs in *Ateleia* (Leguminosae: Papilionoideae: (Sophoreae)). *Am J Bot* 77:750–761
- Tucker SC (1993) Floral ontogeny in *Sophoreae* (Leguminosae: Papilionoideae). I. *Myroxylon* (*Myroxylon* group) *Castanospermum* (*Angylocalyx* group). *Am J Bot* 80:65–75. <http://www.jstor.org/stable/2445121>
- Tucker SC (1994) Floral ontogeny in *Sophoreae* (Leguminosae: Papilionoideae): II. *Sophora sensu lato* (*Sophora* group). *Am J Bot* 81:368–380
- Vilas Boas JC, Fava WS, Laroca S, Sigrist MR (2013) Two sympatric *Byrsonima* species (Malpighiaceae) differ in phenological and reproductive patterns. *Flora* 208:360–369
- Waser NM, Chittka L, Price MV, Williams NM, Ollerton J (1996) Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77:1043–1060. <http://www.jstor.org/stable/2265575>
- Westerkamp C (1997) Keel blossoms: bee flowers with adaptations against bees. *Flora* 192:125–132
- Westerkamp C, Paul H (1993) *Apios americana*, a fly-pollinated papilionaceous flower? *Pl Syst Evol* 187:135–144
- Westerkamp C, ClaBen-Bockhoff R (2007) Bilabiate Flowers: The Ultimate Response to Bees? *Ann Bot* 100:361–374. doi:[10.1093/aob/mcm123](https://doi.org/10.1093/aob/mcm123)
- Williams G, Adam P (1994) A review of rainforest pollination and plant-pollinator interactions with particular reference to Australian subtropical rainforests. *Australian Zoo* 29:177–212

Wilson P, Wolfe AD, Armbruster WS, Thomson JD (2007) Constrained lability in floral evolution: counting convergent origins of hummingbird pollination in *Penstemon* and *Keckiella*. *New Phytol* 176:883–890. doi:[10.1111/j.1469-8137.2007.02219.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02219.x)

Zapata TR, Arroyo MTK (1978) Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10:221–230

Zar JH (2010) *Biostatistical analysis*. 5ed. New Jersey: Prentice-Hall, Upper Saddle River.

944

**Tabela 1.** Sistema de reprodução das leguminosas *Discolobium pulchellum* (Pantanal de Miranda, Corumbá) e *Riedeliella graciliflora* (remanescente urbano de Cerrado, Campo Grande) em Mato Grosso do Sul, Brasil. Porcentagem de frutificação (n° frutos/n° flores) após tratamentos de polinização (autopolinização espontânea, autopolinização manual, polinização cruzada manual) e em condições naturais. Valores seguidos de mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente ( $p < 0,05$ )

Tratamento	<i>Discolobium pulchellum</i> (Pantanal) % (n° frutos/n° flores)	<i>Riedeliella graciliflora</i> (Cerrado) % (n° frutos/n° flores)
Autopolinização espontânea	88 (24/30) a	23 (7/30) a
Autopolinização manual	74 (23/30) a	33 (13/30) a
Polinização cruzada manual	73 (22/30) a	76 (23/30) b
Condições naturais (controle)	73 (22/30) a	73 (22/30) b
IAF *	1,2	0,17
ISI *	1,0	0,56
RE *	1,0	0,96

\* IAF (Índice de Autofertilidade) = % frutificação após autopolinização espontânea/ % de frutificação após polinização cruzada; ISI (Índice de Autoincompatibilidade) = % frutificação após autopolinização manual/% frutificação após polinização cruzada; RE (Eficiência Reprodutiva) = % de frutificação em condições naturais/% frutificação após a polinização cruzada.

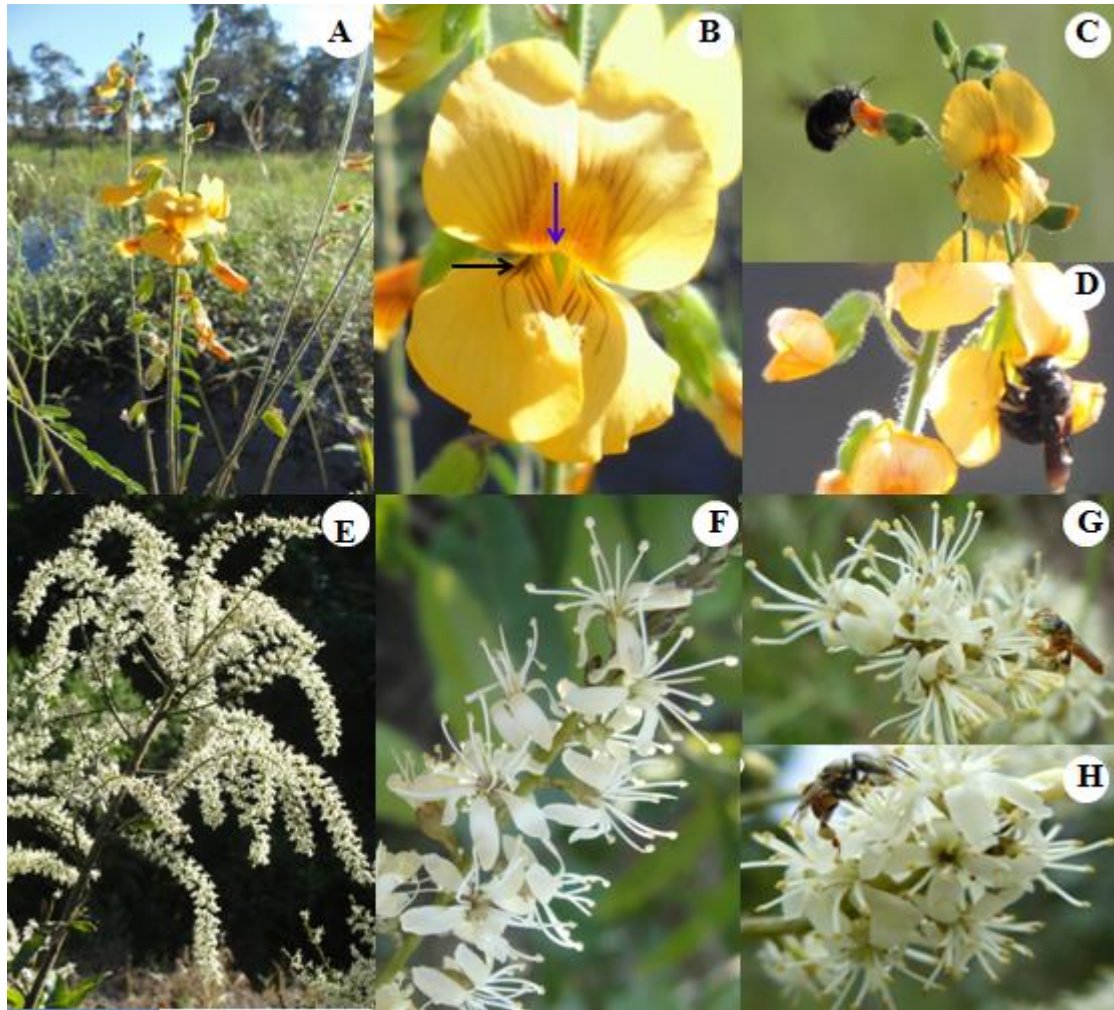
**Tabela 2.** Comprimento total aproximado do corpo (CTA) e frequência de visita (número de visitas/total de horas de observação) dos visitantes florais das leguminosas *Discolobium pulchellum* (Pantanal de Miranda, Corumbá) e *Riedeliella graciliflora* (remanescente urbano de Cerrado, Campo Grande) em Mato Grosso do Sul, Brasil. Valores seguidos de mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente ( $p < 0,05$ )

Visitante floral	CTA	<i>Discolobium pulchellum</i> (Pantanal)	<i>Riedeliella graciliflora</i> (Cerrado)
	X ± DP (mm)	Frequência de visita	Frequência de visita
Hymenoptera, Apidae			
<i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758	11,3 ± 0,4	0,88 a	0,67 a
<i>Bombus (Fervidobombus) morio</i> Swedereus, 1787	16,3 ± 4,4	0,94 a	–
<i>Bombus (Fervidobombus) pauloensis</i> Friese, 1913	15,2 ± 3,7	0,87 a	–
<i>Bombus</i> sp.	15,8 ± 1,3	0,76 a	–
<i>Centris (Trachina) fuscata</i> Lepeletier, 1841	18,0 ± 0,9	0,72 a	0,71 a
<i>Leurotrigona muelleri</i> (Friese, 1900)	6,0 ± 0,2	–	0,57 a
<i>Paratrigona lineata</i> (Lepeletier, 1836)	4,7 ± 0,5	–	0,57 a
<i>Tetragonisca angustula</i> (Latreille, 1811)	3,6 ± 0,3	0,39 b	0,71 a
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius, 1793)	6,2 ± 0,3	0,27 b	–
Lepidoptera, Hesperidae			
<i>Urbanus cf. procne</i> (Plötz, 1880)	4 ± 0,7	0,11 b	–

\* Tempo total de observação por espécie: 72 horas (*Discolobium pulchellum*) e 21 horas (*Riedeliella graciliflora*).

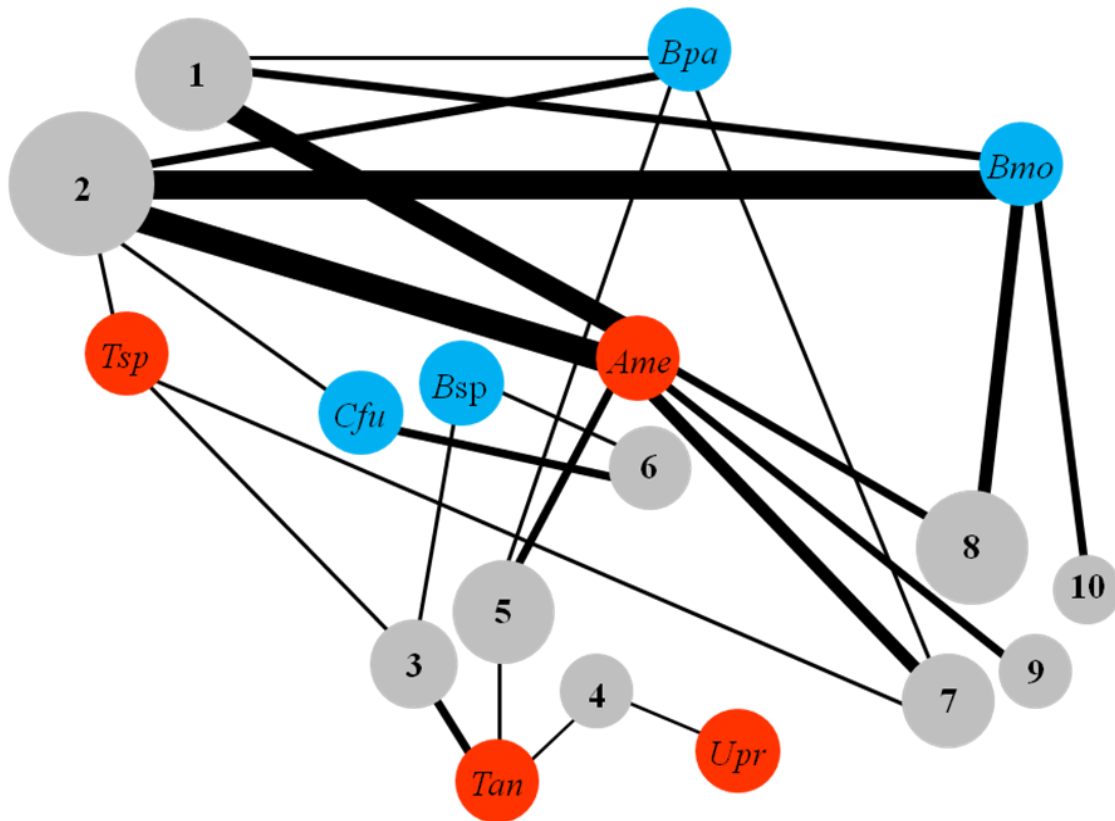
**Tabela 3.** Comparação fenotípica entre as inflorescências e flores de *D. pulchellum* e *R. graciliflora* em diversos aspectos morfológicos, funcionais e bioquímicos

Caracteres	<i>Discolobium pulchellum</i>	<i>Riedeliella graciliflora</i>
<i>Morfológicos</i>		
Forma	Zigomorfa, tipo estandarte	Actinomorfa, tipo pincel
Cor	Amarela	Branca
Tamanho	17,1 ± 1,6	7,8 ± 0,7
<i>Funcionais</i>		
Período de antese	Diurna	Diurna
Modo de polinização	Especializado	Especializado
<i>Bioquímicos</i>		
Odor	Adocicado	Adocicado
Recurso	Néctar	Pólen

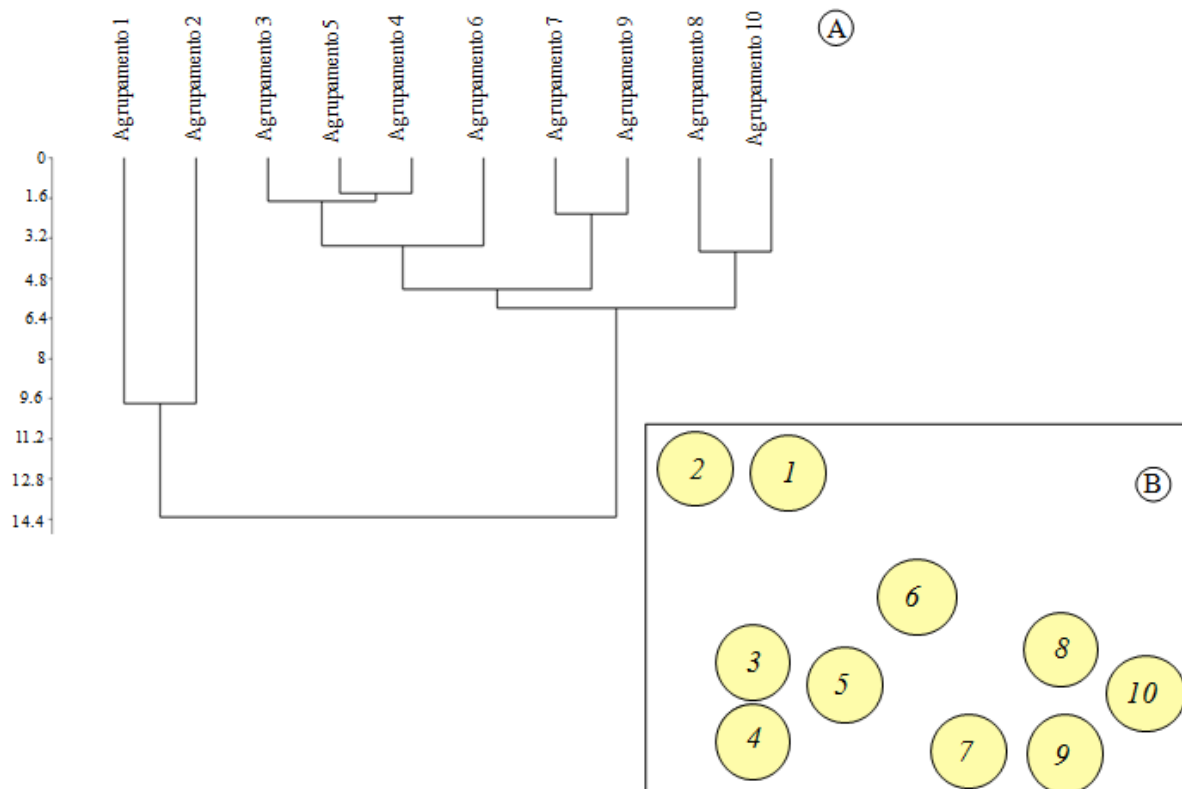


**Fig. 1.** *Discolobium pulchellum* (A–D): inflorescência (A), flor em vista frontal (B) e abelhas *Bombus* spp. coletando néctar em flor fechada (C) e aberta (D). Em B, a seta azul indica à entrada da câmara nectarífera e a seta preta a região côncava das asas com porção lamelada. *Riedeliella graciliflora* (E–H): Inflorescência (E) e detalhe do racemo espiciforme (F). Abelhas *Tetragonisca angustula* (G) e *Paratrigona lineata* (H) coletando pólen nas flores.





**Fig. 2.** Grafo Kamada-Kawai mostrando o forrageamento dos visitantes florais e polinizadores entre agrupamentos de *Discolobium pulchellum* (vértices cinza) e seus polinizadores (vértices azuis) e pilhadores (vértices vermelhos). O tamanho e a proximidade dos vértices cinzas representam a quantidade de flores e a distância entre as manchas respectivamente. A espessura das linhas ou arestas representa a frequência de visitas. **Ame** – *Apis mellifera*; **Bmo** – *Bombus morio*; **Bpa** – *Bombus pauloensis*; **Bsp** – *Bombus* sp.; **Cfu** – *Centris fuscata*; **Tan** – *Tetragonisca angustula*; **Tsp** – *Trigona spinipes*; **Upr** – *Urbanus* cf. *procne*.



**Fig. 3.** Análise multivariada (*cluster analysis*) entre agrupamentos mostrando a similaridade na composição de espécies de visitantes florais em *Discolobium pulchellum* (A). Coph.corr.: 0.8821. (Agrupamento 1: 9.798, Agrupamento 2: 9.798): 4.532, (((Agrupamento 3: 1.732, (Agrupamento 5: 1.414, Agrupamento 4: 1.414): 0.3178): 1.771, Agrupamento 6: 3.503): 1.738, (Agrupamento 7: 2.236, Agrupamento 9: 2.236): 3.005): 0.75, (Agrupamento 8: 3.742, Agrupamento 10: 3.742): 2.249): 8.339): 0. Esquema mostrando a distância entre os fragmentos que variaram de 50 metros até 1 km (B).

## Anexos

### 1.1 SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

#### Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico

Número: 49576-1	Data da Emissão: 12/06/2015 16:27
-----------------	-----------------------------------

#### Dados do titular

Nome: LARISSA MARQUES BERGAMO	CPF: 367.419.118-04
-------------------------------	---------------------

SISBIO

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
3	O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	É necessário a obtenção de anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como de consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade
5	Este documento não abrange a coleta de vegetais hidróbios, tendo em vista que o Decreto-Lei nº 221/1967 e o Art. 36 da Lei nº 9.605/1998 estabelecem a necessidade de obtenção de autorização para coleta de vegetais hidróbios para fins científicos..
6	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
7	Este documento não é válido para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e c) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .
9	Esse documento não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; II) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; III) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; IV) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; V) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outra

#### Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	FAMILIA	Leguminosae, Malpighiaceae

## 1.2 Normas de Publicação (Plant Systematics and Evolution)

### INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Article types

Editorial procedure

Important note:

Please follow Instructions for authors carefully. Manuscripts that fail to conform the style of Plant Systematics and Evolution will be returned to authors for completion/correction. All manuscripts are evaluated by members of the Editorial board (Manager Editors, Editors-in-Chief, and Associate Editors) to determine whether the paper should go forward for peer review. If the paper does not meet the criteria Plant Systematics and Evolution, or the subject of the paper falls beyond the scope of the journal, the submitted manuscript will be returned to the author(s) without further review. We make every effort to do this as quickly as possible to ensure that the authors can take their work forward without unnecessary delays. Papers sent out for review will, typically, be sent to two or three independent referees. Authors are kindly asked to provide a list of reviewers including their scientific relations. Furthermore a short explanation (two sentences) of their findings should be given. The Associate Editors and the Editor-in-Chief then make a decision based on the referees' advice and taking into account the editorial policy of the journal to accept, subject to revision, or reject the paper. The decision to subject a paper to revisions does not imply acceptance. Revised manuscripts must be received within the date stated by the Editor in the decision letter. If resubmitted after this date, the manuscript will be treated as a new submission. All resubmitted manuscripts will be treated as new submissions and undergo the same review process at the Editors' discretion. The decisions of the Editor-in-Chief are final.

Papers are evaluated for innovations in, significant contributions to, and noteworthy advances in the theoretical or conceptual bases of the subdisciplines of plant biology, and/or novel insights of general relevance to fundamental questions of biology.

We do not encourage purely descriptive submissions of genetic diversity, ultrastructure, reproductive biology or ontogeny. Data gained by such studies should always be put into a broader context with appropriate insights (including meaningful sampling, several related taxa, comparison to other markers etc.) on systematic and evolutionary questions. The same applies for contributions on crop plants, which should have a clear evolutionary/systematic message. We recommend submitting contributions concerning marker development, single species descriptions (unless the importance is justified), or studies of local or regional relevance to more specialized journals. We do not encourage the submission of phylogenetic studies that are based on single markers or rely on outdated techniques.

Papers that contain only previously published data will not be considered.

### MANUSCRIPT SUBMISSION

#### Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been

approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly– at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

### Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

### Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

### Cover Letter / Response to reviewer comments

Include a cover letter that describes the questions addressed or hypotheses tested, the major contribution of your paper to your discipline, and how this contribution is of interest to a broad audience. List any papers on related topics by any of the authors that have been published within the past years or that are in review or in press.

For a revision, include a letter detailing your response to all the review comments.

## TITLE PAGE

### Title Page

The title page should include:

- ✚ The name(s) of the author(s)
- ✚ A concise and informative title
- ✚ The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- ✚ The e-mail address, and telephone number(s) of the corresponding author
- ✚ If available, the 16-digit ORCID of the author(s)

### Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

### Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Important notes:

#### **Please give also a Running title**

Please remember that the abstract must be usable as a stand-alone document which presents the major results and conclusions of the paper, using simple, factual statements.

## MANUSCRIPT STRUCTURE

The text of a research paper should be divided into: Title page, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion (optional), Taxonomic Treatment (optional), Acknowledgments, Legend to Electronic Supplementary Material (if applicable) and References. Fused Results and Discussion is acceptable only for Short communications.

The text is followed by Figure captions. Tables, Figures and Electronic Supplementary Material are uploaded as separate files.

#### Introduction

The introduction should state the reason for carrying out the study presented in the paper, the questions under consideration, and it should outline the essential background. The introduction section typically ends with specific, testable hypotheses.

#### Materials and methods

The materials and methods section should provide sufficient details about the applied methods and techniques to allow replication of all parts of the study. Standard techniques and approaches do not need to be described in detail; use references to previously published work instead.

#### Results

The results section should state the results in a logical way, drawing attention to important details shown in tables and figures. Use factual statements and avoid discussing the results in this section.

#### Discussion

The discussion section should point out the significance of the results in relation to the questions and hypotheses presented in the introduction, and it should place the new findings in the context of other work.

#### Conclusions

In this section, authors could concisely describe the main contribution/ outcome of the research and give a clear explanation of its importance and relevance.


#### Taxonomic treatment

Identification key and taxonomic revisions and novelties should be presented in a separate paragraph “Taxonomic treatment” immediately after “Discussion” or “Conclusions”. For “Taxonomic treatment” follow detail instructions given here

TEXT

#### Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

-  Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.

- ✚ Use italics for emphasis.
- ✚ Use the automatic page numbering function to number the pages.
- ✚ Do not use field functions.
- ✚ Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- ✚ Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- ✚ Use the equation editor or MathType for equations.
- ✚ Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

### Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

### Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

### Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data).

Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

### Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

Please note:

Contrary to the information given above, please use 12 point Times Roman and simple spacing. A 25 mm margin is preferred for all manuscript pages.

The use of **footnotes** is discouraged!

Do not use **line numbering**

## SCIENTIFIC STYLE

- Please always use internationally accepted signs and symbols for units, SI units
- Common Latin words ( a priori, in vivo, vice versa) and abbreviations (e.g., a.i., vs, s.s., s.l., p.p.) are not italicized.
- Generic and infrageneric names should be in italics, higher taxonomic levels in normal text. Use standart abbreviations for taxonomic ranks: cl. (class), ord. (order), fam. (family), tr. (tribe), gen. (genus), subg. (subgenus), sect. (section), ser. (series), sp. (species), subsp. (subspecies), var. (variety), f. (forma) etc. Scientific (Latin) names should conform to the international rules of nomenclature <http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php>.
- The names of authors of plant names or their abbreviations (e.g. L., Mill., T.R.Dudley) are not required unless they are relevant to the taxonomic or nomenclature content of the paper. In the cases when required the authority must be given either when first mentioned in text (not

in the manuscript title) or all of them included in one of the tables. Always use the standard abbreviation of a authors's names according Brummitt RK, Powell CE (1992) Authors of Plant Names, Royal Botanic Garden, Kew available also at [www.ipni.org](http://www.ipni.org). (Notice: no space after full stop, use the „ & “ symbol before the second/last author, the citation should be restricted to the first author followed by “et al.” in the case of more than two authors).

- In principal, voucher specimens documenting all investigated accessions (for population samples at least one specimen per population) are to be deposited in a public herbarium referred to using the acronym given in the “Index Herbariorum” [Thiers B, continuously updated, Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff, New York Botanical Garden, New York, Available at: <http://sciweb.nybg.org/science2/IndexHerbariorum.asp>).

- Manuscripts that report data from individual populations must include the GPS coordinates for each of the populations sampled. Geographic names in non-Roman scripts have to be transliterated in accordance with ALA-LC system (<http://www.loc.gov/catdir/cpsol/roman.html>) without diacritics (see “References”). If vouchers or GPS coordinates are unavailable, an explanation must be provided in the cover letter, as well as within the article itself.

- PSE requires that supporting data be deposited in an appropriate repository to facilitate reader access prior to final acceptance of the manuscript. Genetic information, such as DNA, RNA, or protein sequences, should be submitted to an appropriate data bank, such as GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) or EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/embl/>).

Authors are encouraged to archive all sequences generated from next-generation sequencing techniques in a suitable public repository, such as the Sequence Read Archive of NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>), the Sequence Read Archive of ENA ([http://www.ebi.ac.uk/ena/about/sra\\_submissions](http://www.ebi.ac.uk/ena/about/sra_submissions)), or Dryad. Alignments used to produce phylogenies must be submitted to publicly available site (TreeBase <http://www.treebase.org>, Dryad <http://datadryad.org/>), or to PSE to be published with the paper as Online Appendix.

- Generic names of drugs and pesticides are preferred; if trade names are used, the generic name should be given at first mention.

## REFERENCES

Please follow the advice in the download below:

## TABLES

- ✚ All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- ✚ Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- ✚ For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- ✚ Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- ✚ Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

PSE encourages online-only publication of extensive tables that support the article but more convenient in electronic form (see Electronic Supplementary Material).

## ARTWORK



For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork –photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

### Electronic Figure Submission

- ✚ Supply all figures electronically.
- ✚ Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- ✚ For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.
- ✚ Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- ✚ Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### Line Art

- ✚ Definition: Black and white graphic with no shading.
- ✚ Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- ✚ All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- ✚ Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- ✚ Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

### Halftone Art

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

### Combination Art

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

### Color Art

Color art is free of charge for print and online publication.

Color illustrations should be submitted as RGB.

### Figure Lettering

- ✚ To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- ✚ Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- ✚ Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- ✚ Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- ✚ Do not include titles or captions within your illustrations.

### Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

### Figure Captions

- ✚ Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- ✚ Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- ✚ No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- ✚ Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- ✚ Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### Figure Placement and Size

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

### Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware) Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

## ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

### Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

### Audio, Video, and Animations

Aspect ratio: 16:9 or 4:3

Maximum file size: 25 GB

Minimum video duration: 1 sec

Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

### Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability. A collection of figures may also be combined in a PDF file.

### Spreadsheets

Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

### Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

### Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

### Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".

Name the files consecutively, e.g. "ESM\_3.mpg", "ESM\_4.pdf".

### Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

### Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

Please note:

Prepare a short paragraph (legend) describing the content of your Electronic Supplementary Material and place it in your manuscript in front of the References.

## ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavor. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

- ✚ The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- ✚ The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”)).
- ✚ A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).
- ✚ No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
- ✚ No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

**Important note:** the journal may use software to screen for plagiarism.

- ✚ Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, before the work is submitted.
- ✚ Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.
- ✚ Authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission. Changes of authorship or in the order of authors are not accepted after acceptance of a manuscript.
- ✚ Adding and/or deleting authors at revision stage may be justifiably warranted. A letter must accompany the revised manuscript to explain the role of the added and/or deleted author(s). Further documentation may be required to support your request.

- ✚ Requests for addition or removal of authors as a result of authorship disputes after acceptance are honored after formal notification by the institute or independent body and/or when there is agreement between all authors.
- ✚ Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential proprietary data is excluded.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to: If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.

If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note. Please note that retraction means that the paper is maintained on the platform, watermarked "retracted" and explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article.

The author's institution may be informed.

## COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled "Compliance with Ethical Standards" when submitting a paper:

Disclosure of potential conflicts of interest  
Research involving Human Participants and/or Animals  
Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully. The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the abovementioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

## DISCLOSURE OF POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests **that are directly or indirectly related to the research** may include but are not limited to the following:

- ✚ Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)
- ✚ Honoraria for speaking at symposia
- ✚ Financial support for attending symposia
- ✚ Financial support for educational programs
- ✚ Employment or consultation
- ✚ Support from a project sponsor
- ✚ Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships
- ✚ Multiple affiliations
- ✚ Financial relationships, for example equity ownership or investment interest
- ✚ Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)
- ✚ Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work
- ✚ In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found here:

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

See below examples of disclosures:

**Funding:** This study was funded by X (grant number X).

**Conflict of Interest:** Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

## AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order Open Choice and off prints.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

### Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

### Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

### Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

### Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

### Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

## OPEN CHOICE

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

### Open Choice

### Copyright and license term – CC BY

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Find more about the license agreement

## ENGLISH LANGUAGE EDITING

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.

Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.

Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts.

English language tutorial

Nature Research Editing Service

American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and formal style before publication.