

Como as mudanças climáticas podem afetar a polinização em condições subtropicais? Efeito de alterações regime hídrico sobre caracteres florais

Maria Luisa Passos Frigero

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Área de concentração Biodiversidade Vegetal.

BOTUCATU – SP

2023



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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Como as mudanças climáticas podem afetar a polinização em condições subtropicais? Efeito de alterações no regime hídrico sobre caracteres florais

Maria Luisa Passos Frigero

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Elza Guimarães

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Área de concentração Biodiversidade Vegetal.

BOTUCATU – SP

2023

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

F912c

Frigerio, Maria Luisa Passos

Como as mudanças climáticas podem afetar a polinização em condições subtropicais? : Efeito de alterações regime hídrico sobre caracteres florais / Maria Luisa Passos Frigerio. -- Botucatu, 2023
88 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Botucatu
Orientadora: Elza Guimarães

1. abobrinha italiana. 2. escassez hídrica. 3. mudanças climáticas. 4.
polinização por abelhas. 5. recurso floral. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado garantida a mim (processo número 130401/2021-8 e 130689/2022-0).

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), IBB, UNESP pelo suporte para a realização do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo número 2021/10428-4

À Prof^a Dr^a Elza Guimarães e à Dr^a Priscila Tunes, que mais do que me orientaram, me ajudaram a crescer como profissional, me ensinando muito mais do que consigo colocar em palavras.

Ao professor Roberto Lyra Villas Bôas, do Departamento de Ciência Florestal, Solo e Ambiente da Universidade Estadual de São Paulo, por fornecer o protocolo de fertilização ideal para o cultivo de *Cucurbita pepo*.

E aos meus colegas do Laboratório de Ecologia e Evolução das Interações Planta-Animal por toda ajuda e apoio na realização deste estudo.

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	7
INTRODUÇÃO GERAL.....	9
Referências bibliográficas.....	11
CAPÍTULO 1 – Influência de alterações no regime hídrico sobre caracteres reprodutivos de <i>Cucurbita pepo</i> L.....	15
Resumo.....	16
Introdução.....	17
Material e métodos.....	20
Resultados.....	25
Discussão e conclusão.....	31
Referências bibliográficas.....	34
Apêndice.....	39
CAPÍTULO 2 – Influência de alterações no regime hídrico sobre o néctar floral de <i>Cucurbita pepo</i> L.....	51
Resumo.....	52
Introdução.....	53
Material e métodos.....	54
Resultados.....	58
Discussão e conclusão.....	64
Referências bibliográficas.....	68
Apêndice.....	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84

1 FRIGERO, M.L.P. (2023). **COMO AS MUDANÇAS CLIMÁTICAS PODEM**
2 **AFETAR A POLINIZAÇÃO EM CONDIÇÕES SUBTROPICAIS? EFEITO DE**
3 **ALTERAÇÕES NO REGIME HÍDRICO SOBRE CARACTERES FLORAIS.**
4 TESE (MESTRADO), 87p – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP –
5 UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

6

7 **RESUMO** - Nos últimos anos vem crescendo o número de trabalhos envolvendo
8 mudanças climáticas e seus efeitos. Alterações nos padrões de precipitação esperadas
9 para as próximas décadas, segundo previsões do IPCC-AR 6, podem acarretar
10 importantes modificações em caracteres vegetais, sejam eles ligados direta ou
11 indiretamente à reprodução das espécies vegetais. Por exemplo, modificações no regime
12 hídrico podem afetar diretamente a reprodução das plantas através de alterações na
13 produção de gametas, ou indiretamente, através da diminuição do anúncio floral aos
14 polinizadores em função da redução do número de flores. Caracteres vegetais
15 responsáveis pela manutenção das interações planta-animal, como os atrativos florais,
16 também podem sofrer alterações de acordo com variações no regime hídrico. Dentre
17 estas interações, podemos destacar a polinização como uma das mais importantes, já
18 que a maior parte das angiospermas, tanto em ecossistemas naturais quanto em
19 condições de cultivo, depende da polinização por animais para sua reprodução. Sendo
20 assim, alterações na disponibilidade de água podem afetar não somente a reprodução
21 das espécies vegetais *per se*, mas também a produção de alimentos. Pensando neste
22 cenário, conduzimos nosso estudo pautado no plano de ação proposto pela ONU na
23 Agenda 2030, considerando alguns dos objetivos nele contemplados, como conservação
24 da biodiversidade, de processos ecossistêmicos e a manutenção da segurança alimentar.
25 Escolhemos a espécie *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae), cultivar Caserta, como
26 modelo para realização desse estudo por tratar-se de uma importante espécie agrícola,
27 amplamente cultivada no Brasil e no mundo, com alta dependência da polinização por
28 animais para sua reprodução e, conseqüentemente, para a produção dos frutos
29 comercializáveis. Exploramos, em dois capítulos, de forma complementar, se cenários
30 de modificação de pluviosidade previstos pelo IPCC afetam a produção de flores,
31 caracteres reprodutivos de flores pistiladas e estaminadas, e o néctar floral, recurso
32 consumido por abelhas polinizadoras dessa espécie vegetal. No primeiro capítulo,
33 vimos que a variação no regime hídrico não afetou a produção de estruturas portadoras

1 de gametas masculinos e femininos de *C. pepo*, mas afetou a produção total de flores ao
2 longo do período de floração. Já no Capítulo 2, os cenários de escassez hídrica levaram
3 à redução no volume, concentração e miligramas totais de açúcares do néctar por flor e
4 à redução nas dimensões do nectário. Adicionalmente, verificamos que houve uma
5 redução significativa na oferta calórica disponível aos visitantes florais de *C. pepo* por
6 planta, o que, em um cenário de cultivo, representou uma redução de aproximadamente
7 20 vezes na oferta calórica por hectare. Esses resultados indicam que a reprodução de
8 espécies vegetais em cenários de escassez hídrica poderá ser altamente comprometida,
9 especialmente no que se refere à quantidade de recurso disponível aos polinizadores em
10 cada flor, o que é potencializado pela redução no número total de flores produzidas pela
11 espécie durante o período de florescimento. Isso pode se tornar ainda mais importante
12 no caso de espécies polinizadas por abelhas, em que os recursos são utilizados tanto
13 para manutenção dos adultos quanto da prole. Embora nossa espécie modelo seja uma
14 espécie cultivada, os resultados obtidos aqui podem ser transpostos para espécies
15 vegetando em ecossistemas naturais, nos quais não há possibilidade de aumentar a
16 irrigação, o que pode levar impactos importantes nas cascatas tróficas em nível de
17 comunidade.

18 **Palavras-chave:** abobrinha italiana, escassez hídrica, mudanças climáticas, polinização
19 por abelhas, recurso floral, requerimento hídrico, seca.

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

1 **ABSTRACT**

2 The number of articles that involve climate changes and their effects has
3 increased in recent years. Those changes in rainfall are expected in the next decades
4 according to IPCC-AR 6 predictions and can alter a great number of important floral
5 characters directly and indirectly related to the reproduction of plant species. For
6 example, changes in water availability can directly affect plant reproduction through
7 changes in gamete production, or indirectly, through a decrease in the floral display due
8 to the reduction in the number of flowers. Floral traits responsible for the maintenance
9 of plant-animal interactions could also change due to the lack of water. In those
10 interactions we can remark the pollination as one of the most important one since most
11 of angiosperm, both in natural ecosystems and in crop production, depend exclusively
12 on this interaction for reproduction. Therefore, changes in water availability can affect
13 not only reproduction of plant species per se, but also crop manufacturing. With this
14 scenario in mind, we conducted our study guided by the UN's Sustainable Development
15 Goals guide, including here goals as biodiversity conservation, ecosystem processes and
16 food security for everyone. We chose *Cucurbita pepo* L. for this study due to its
17 economic value and wide distribution in Brazil and worldwide and strong animal
18 dependency for reproduction, consequently, for the production of economic value fruits.
19 We explore in these two complementarily chapters if scenarios of changes in rainfall
20 predicted by the IPCC affect the production of flowers, reproductive characters of
21 pistillate and staminate flowers, and floral nectar, a resource consumed by pollinator
22 bees of this plant species. In the first chapter, it is seen that variation in water
23 availability did not affect structures with gamete production of *C. pepo*, but it did affect
24 total flower production throughout the flowering period. In Chapter 2, scenarios with
25 shortage of water led to a reduction in the volume, concentration, and the amount of
26 sugar in the nectar per flower and a reduction in the nectary size. Additionally, we
27 verified that there was a significant reduction in the caloric offer available to floral
28 visitors of *C. pepo* per individual, which, in a cultivation scenario, represented a
29 reduction of approximately 20 times in the caloric offer per hectare. These results
30 indicate that the reproduction of plant species in scenarios of lack of water may be
31 highly compromised, especially regarding the amount of resource available to
32 pollinators in each flower, which is enhanced by the reduction in the total number of
33 flowers produced by the species during the flowering period. This can become even
34 more important in the case of species pollinated by bees, where resources are used both

1 for the maintenance of adults and bee brood. Although our model species is a cultivated
2 one, the results obtained here can be transposed to other species in natural ecosystems,
3 in which there is no possibility of increasing irrigation, which can lead to important
4 impacts on trophic cascades at the community level.

5 **Keywords:** bee pollination, climate changes, drought, floral resource, zucchini

1 **INTRODUÇÃO GERAL**

2 O mais recente relatório do IPCC (2021), o AR6, apresenta evidências de que as
3 mudanças climáticas têm ocorrido em uma curta escala temporal e têm se mostrado
4 generalizadas e intensas. As interferências antrópicas têm tornado eventos climáticos
5 extremos, como ondas de calor, pluviosidade intensa, secas e ciclones tropicais, cada
6 vez mais frequentes e severos. Um aumento excessivo da pluviosidade pode piorar a
7 erosão dos solos e causar danificações importantes de lavouras, até mesmo impedindo a
8 produção de certas culturas devido ao encharcamento da região. Por outro lado,
9 extensos períodos de seca podem levar a degradação da terra, diminuindo a
10 produtividade de culturas e aumentando o risco de incêndios naturais. Ainda, situações
11 de seca extrema podem aumentar a falta de água e comida disponíveis para a população,
12 levando a crescentes situações de desnutrição e outras doenças relacionadas a estes
13 fatores (IPCC, 2021).

14 Há evidências de que as mudanças climáticas estão afetando todas as regiões da
15 Terra de formas variadas, o que ressalta a importância das previsões regionais e da
16 investigação de suas consequências locais. Na América Latina, espera-se que o aumento
17 da temperatura associado com uma diminuição na água dos solos leve a substituições de
18 vegetações (IPCC, 2021). Estas mudanças podem não apenas causar perda da
19 biodiversidade por conta de extinções, mas levar a uma diminuição na produção de
20 importantes culturas. No Brasil, são previstas alterações causadas por mudanças no
21 regime das chuvas em todas as regiões, chegando a reduções de pluviosidade de até
22 45% em algumas localidades (Souza & Manzi, 2013).

23 A diminuição da água disponível no ambiente ou mesmo seu aumento excessivo,
24 em eventos extremos relacionados à pluviosidade, podem impactar o potencial
25 reprodutivo das espécies vegetais. Isso pode ocorrer através da redução do número de
26 flores (Glenny *et al.*, 2018; Suni *et al.*, 2020; Walter, 2020), que pode significar menos
27 unidades disponíveis para formação de frutos ou ainda menores possibilidades de
28 cruzamentos compatíveis em espécies alógamas, levando à diminuição no sucesso
29 reprodutivo (García & Chacoff, 2007; Gallagher & Campbell, 2017).

30 Além de afetar diretamente a produção de frutos, essas mudanças no regime
31 hídrico podem causar uma potencial redução na polinização associada ao declínio do
32 recurso trófico explorado pelas abelhas polinizadoras. Sabemos que um menor anúncio

1 floral tem sido relacionado com a diminuição da frequência de visitas, o que afeta
2 negativamente a polinização (Muñoz *et al.*, 2005; García & Chacoff, 2007). A redução
3 na quantidade de flores pode levar à menores frequências e durações das visitas dos
4 polinizadores, já que um menor anúncio floral pode tornar as flores menos conspícuas
5 para esses animais (Spaethe *et al.*, 2001; Schiestl & Johnson, 2013). Esta redução pode
6 também estar relacionada com a diminuição de oferta calórica para estes animais, que
7 pode passar a ser insuficiente para a manutenção do forrageamento de polinizadores
8 naquele local (Willmer, 2011; Phillips *et al.*, 2018).

9 Adicionalmente, o anúncio floral auxilia na constância de visitas, tendo efeito
10 direto sobre a reprodução das plantas, pois facilita a transferência de pólen entre
11 indivíduos de uma mesma espécie vegetal (Waser, 1978), evitando que haja perda dos
12 grãos de pólen em estigmas incompatíveis. Entretanto, alterações na disponibilidade de
13 água podem afetar as características do pólen, como a quantidade, a qualidade e a
14 viabilidade dos grãos de pólen produzidos pela planta (Herlihy & Delph, 2009; Waser
15 & Price, 2016; Descamps *et al.*, 2018; Pacini & Dolferus, 2019). Além disso, mudanças
16 no regime hídrico podem afetar o componente feminino do sucesso reprodutivo através
17 da redução na quantidade de óvulos produzidos, que pode, ou não, vir acompanhada de
18 diminuição nos ovários (Cariveau *et al.*, 2004; Rapoport *et al.*, 2019).

19 Este cenário de modificações hídricas pode afetar, também, importantes
20 caracteres envolvidos na atração dos polinizadores (Waser *et al.*, 1996; Galen, 1999;
21 Carroll *et al.*, 2001). Além de essencial para a manutenção dos ecossistemas tropicais
22 (Memmott *et al.*, 2007), a polinização contribui substancialmente para a produção de
23 alimentos e para a economia mundial, sendo responsável por 76% da produção de
24 alimentos no Brasil (Wolowski *et al.*, 2019). Este mutualismo é mediado por atrativos
25 florais que podem ser classificados em primários e secundários (Faegri & van der Pijl,
26 1979). Os primários representam os atrativos que atendem às demandas fisiológicas do
27 visitante, sendo o néctar o recurso trófico mais amplamente distribuído entre as
28 angiospermas e coletado pela maior diversidade de polinizadores (Faegri & van der Pijl,
29 1979; Baker & Baker, 1983; Nicolson *et al.*, 2007). Este recurso nutritivo é fundamental
30 para abelhas, que constituem o principal grupo de polinizadores, podendo ser utilizado
31 por adultos e suas crias (Willmer, 2011; Ollerton, 2021). O néctar é produzido
32 comumente por nectários florais localizados nos verticilos mais internos, sendo uma

1 solução composta principalmente de carboidratos e água (Baker & Baker, 1983;
2 Nicolson *et al.*, 2007).

3 A espécie vegetal modelo escolhida para estudo foi a abobrinha italiana
4 (*Cucurbita pepo* L.). Esta importante hortaliça pertence à família Cucurbitaceae e é
5 nativa da região central do México, sendo bem adaptada ao clima subtropical e
6 temperado (Nepi *et al.*, 2001). Dentre sua grande variedade de frutos, alguns são
7 palatáveis e outros não (Paris, 1986), mas todos são essencialmente dependentes da
8 polinização por animais para sua produção (Passarelli, 2002). Atualmente, a abobrinha
9 italiana é uma das dez hortaliças de maior produção e valor econômico no Brasil
10 (Filgueira, 2003), tendo ótimo custo-benefício (Souza *et al.*, 2002). O censo de 2017 do
11 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), referente ao ano-safra (outubro de
12 2016 a setembro de 2017), estimou que a abobrinha foi produzida em quase 35 mil
13 estabelecimentos agropecuários, chegando a 158.518 toneladas. O valor de sua
14 produção ultrapassou os R\$ 133.284 milhões de reais, sendo o estado de São Paulo seu
15 maior produtor (IBGE, 2017).

16 Conduzimos nossos estudos nos pautando no plano de ação proposto pela
17 Organização das Nações Unidas, denominado Agenda 2030 (ONU, 2015; Nações
18 Unidas no Brasil, 2022). A agenda inclui 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
19 (ODS) que visam combater diversos problemas enfrentados por todo o globo
20 atualmente, inclusive aqueles que podem ser comprometidos por mudanças nas
21 interações planta-animal, principalmente no mutualismo de polinização (Tylianakis *et*
22 *al.*, 2008). Os ODS 2 e 15 propõem, respectivamente, ações contra a fome e em favor da
23 conservação da vida terrestre, tendo como finalidade dobrar a produtividade de
24 pequenos produtores de alimentos, buscando acabar com a fome; e assegurar a
25 conservação da biodiversidade dos ecossistemas terrestres e seus processos
26 ecossistêmicos, diminuindo a degradação, combatendo a desertificação e favorecendo a
27 manutenção da vida animal nestes locais.

28 Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi investigar se alterações na
29 pluviosidade, similares àquelas projetadas em relatórios recentes do IPCC (2021),
30 afetam atributos relacionados à reprodução de *C. pepo*. No Capítulo 1, investigamos se
31 mudanças no regime hídrico carretam alterações no investimento em caracteres
32 reprodutivos. Complementarmente, no Capítulo 2, investigamos se tais mudanças

1 afetam a produção e as características do néctar, principal recurso floral de *C. pepo*
2 disponível aos polinizadores.

3

4 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 5 Baker, H.G. & Baker, I. (1983). Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator
6 type. Em: Jones, C.E., Handbook of Experimental Pollination Biology. Van
7 Norstrand-Reinhold, New York.
- 8 Cariveau, D., Irwin, R.E., Brody, A.K., Garcia-Mayeya, L.S. & Von Der Ohe, A.
9 (2004). Direct and indirect effects of pollinators and seed predators to selection on
10 plant and floral traits. *Oikos*, 104(1), 15-26.
- 11 Carroll, A.B., Pallardy, S.G. & Galen, C. (2001). Drought stress, plant water status, and
12 floral trait expression in fireweed, *Epilobium angustifolium*
13 (Onagraceae). *American Journal of Botany*, 88 (3), 438-446.
- 14 Descamps, C., Quinet, M., Bajjot, A. & Jacquemart, A.L. (2018). Temperature and
15 water stress affect plant–pollinator interactions in *Borago officinalis*
16 (Boraginaceae). *Ecology and Evolution*, 8(6), 3443-56.
- 17 Faegri, K. & van der Pijl, L. (1979). The principles of pollination ecology, 3rd. Oxford,
18 Pergamon Press, 244.
- 19 Filgueira, F.A.R. (2003). Novo manual de olericultura. 2ª edição, Viçosa-MG, Editora
20 UFV.
- 21 Galen, C. (1999). Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower
22 size and form within natural plant populations. *Bioscience*, 49, 631–640.
- 23 Gallagher, M.K. & Campbell, D.R. (2017). Shifts in water availability mediate plant–
24 pollinator interactions. *New Phytologist*, 215(2), 792-802.
- 25 García, D. & Chacoff, N.P. (2007). Scale-dependent effects of habitat fragmentation on
26 hawthorn pollination, frugivory, and seed predation. *Conservation Biology*, 21(2),
27 400-11.
- 28 Glenny, W.R., Runyon, J.B. & Burkle, L. (2018). Drought and increased CO₂ alter
29 floral visual and olfactory traits with context-dependent effects on pollinator
30 visitation. *New Phytologist*, 220(3), 785-798

1 Herlihy, C.R., & Delph. L.F. (2009). Differential response of floral attractiveness and
2 gametophyte production to stress in flower-size selection lines of *Silene latifolia*
3 (Caryophyllaceae). *International Journal of Plant Sciences* 170, 1103– 1108

4 IBGE – Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2017. Valor
5 da produção, Quantidade produzida, Estabelecimentos, Maior produtor. Disponível
6 em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/abobrinha/br>>.
7 Acesso em: 17/06/2022.

8 IPCC, 2021: Summary for Policymakers. Em: *Climate Change 2021: The Physical*
9 *Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of*
10 *the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Masson-Delmotte, V., Zhai, P.,
11 Pirani, A., Connors, S.L., Péan, C., Berger, S., Caud, N., Chen, Y., Goldfarb, L.,
12 Gomis, M.I., Huang, M., Leitzell, K., Lonnoy, E., Matthews, J.B.R., Maycock, T.
13 K., Waterfield, T., Yelekçi, O., Yu, R., & Zhou, B. (2021). Cambridge University
14 Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 3–32.

15 Memmott, J., Craze, P.G., Waser, N.M. & Price, M.V. (2007). Global warming and the
16 disruption of plant-pollinator interactions. *Ecology Letters*, 10, 710-717.

17 Nações Unidas no Brasil (2022). Sobre o nosso trabalho para alcançar os Objetivos de
18 Desenvolvimento Sustentável no Brasil. Disponível em: brasil.un.org/pt-br/sdgs.
19 Acesso em: 12/08/2022.

20 Nepi, M., Guarnieri, M. & Pacini, E. (2001). Nectar secretion, reabsorption and sugar
21 composition in male and female flowers of *Cucurbita pepo*. *International Journal of*
22 *Plant Sciences*, 162, 353–358.

23 Nicolson, S., Nepi, M. & Pacini, E. (2007). *Nectaries and nectar.* Dordrecht, The
24 Netherlands, 408.

25 Ollerton, J. (2021). *Pollinators & Pollination: Nature and Society.*

26 Organização das Nações Unidas (ONU) - Agenda 2030. (2015). Disponível em:
27 <<https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>>. Acesso em: 17/06/2022.

28 Pacini, E. & Dolferus, R. (2019). Pollen Developmental Arrest: Maintaining Pollen
29 Fertility in a World With a Changing Climate. *Frontiers in Plant Science*, 10, 679.

30 Paris, H.S. (1986). A proposed subspecific classification for *Cucurbita pepo*.
31 *Phytologia*, 61, 133-138.

32 Passarelli, L. (2002). Importancia de "*Apis mellifera*" L. en la producción de "*Cucurbita*
33 *maxima*" Duch. (Zapallito de tronco). *Investigación agraria. Producción y*
34 *protección vegetales*, 17(1), 5-14.

- 1 Rapoport, H.F., Pérez-López, D., Centeno, A., Vega Macías, V., Hidalgo Moya, J.J., &
2 Hidalgo Moya, J.C. (2019). Floral developmental failures and ovary size variability
3 in field-grown olive trees under water deficit. IX International Symposium on
4 Irrigation of Horticultural Crops, Italy.
- 5 Schiestl, F.P. & Johnson, S.D. (2013). Pollinator-mediated evolution of floral signals.
6 *Trends in Ecology & Evolution*, 28, 307-315.
- 7 Souza, E. & Manzi, A. (2013). Capítulo 9: Mudanças Ambientais de Curto e Longo
8 Prazo: Projeções, Reversibilidade e Atribuição. Em: Ambrizzi, T., Rebello, E.,
9 Sifeddine, A., Araújo Costa, A., Pinto, A., Correia, A., Grimm, A., Manzi, A.,
10 Chou, S. C., Salimon, C., Chiessi, C., Muehe, D., Villela, D., Campos, E., De
11 Souza, E., Roland, F., Cruz, F., Nardoto, G., Sampaio, G. & Soares, W. Base
12 Científica das Mudanças Climáticas Contribuição do Grupo de Trabalho 1 ao
13 Primeiro Relatório de Avaliação Nacional do Painel Brasileiro de Mudanças
14 Climáticas.
- 15 Spaethe, J., Schmidt, A., Hickelsberger, A. & Chittka, L. (2001). Adaptation, constraint,
16 and chance in the evolution of flower color and pollinator color vision.
- 17 Suni, S.S., Ainsworth, B. & Hopkins, R. (2020). Local adaptation mediates floral
18 responses to water limitation in an annual wildflower. *American Journal of Botany*
19 107(2), 209– 218.
- 20 Tylianakis, J.M., Didham, R.K., Bascompte, J. & Wardle, D.A. (2008). Global change
21 and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11, 1351-1363.
- 22 Walter, J. (2020). Dryness, wetness and temporary flooding reduce floral resources of
23 plant communities with adverse consequences for pollinator attraction. *Journal of*
24 *Ecology*, 108, 1453– 1464.
- 25 Waser, N.M. (1978). Competition for hummingbird pollination and sequential flowering
26 in two Colorado wildflowers. *Ecology*, 59, 934–944.
- 27 Waser, N.M., Chittka, L., Price, M.V., Williams, N.M. & Ollerton, J. (1996).
28 Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, 77, 1043-1060.
- 29 Waser, N.M. & Price, M.V. (2016). Drought, pollen and nectar availability, and
30 pollination success. *Ecology*, 97(6), 1400-9.
- 31 Willmer, P. (2011). *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press.
- 32 Wolowski, M., Agostini, K., Rech, A.R., Varassin, I.G., Maués, M., Freitas, L.,
33 Carneiro, L.T., Bueno, R. De O., Consolaro, H., Carvalheiro, L., Saraiva, A.M. &

- 1 Silva, C.I. (2019). Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção
- 2 de alimentos no Brasil. São Carlos: Editora Cubo.
- 3

1 CAPÍTULO 1 - Influência de alterações no regime hídrico sobre
2 caracteres reprodutivos de *Cucurbita pepo* L.

3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47

1 **CAPÍTULO 1 - Influência de alterações no regime hídrico sobre caracteres**
2 **reprodutivos de *Cucurbita pepo* L.**

3 **RESUMO**

4 Mudanças climáticas são esperadas para as próximas décadas, com
5 consequências nos ecossistemas e em grandes culturas. Alterações na pluviosidade
6 podem afetar diretamente a reprodução das espécies vegetais, já que podem causar
7 redução na quantidade de flores e na quantidade e qualidade de estruturas portadoras de
8 gametas (pólen e óvulos). A redução no número de flores, pode, por sua vez, afetar
9 negativamente a atração dos polinizadores. Neste capítulo, exploramos as possíveis
10 consequências das alterações de pluviosidade previstas para as próximas décadas pelo
11 IPCC (AR-6, 2021) sobre o investimento em caracteres reprodutivos vegetais, usando
12 como modelo uma espécie de ciclo de vida curto, dependente de polinizadores para sua
13 reprodução e amplamente cultivada em escala global, *Cucurbita pepo* L.
14 (Cucurbitaceae). Para isto, cultivamos em casa de vegetação 120 indivíduos divididos
15 em quatro tratamentos simulando condições de pluviosidade previstas pelo IPCC
16 (2021): [PM] tratamento controle, correspondente a 100% da pluviosidade média local
17 no mês de setembro, [CE] simulação de eventos de chuva extrema, [70%PM] simulando
18 a diminuição de 30% da pluviosidade média do controle, e [SE] simulando períodos de
19 seca extrema seguidos de pluviosidade abundante. Contabilizamos o número total de
20 flores produzidas por indivíduo durante toda a floração, bem como a razão entre suas
21 flores pistiladas e estaminadas. Mensuramos o tamanho dos ovários das flores de *C.*
22 *pepo* e contamos o número de óvulos nas flores pistiladas; e determinamos a
23 quantidade, viabilidade e diâmetro dos grãos de pólen em flores estaminadas. A redução
24 no regime hídrico causou a diminuição da quantidade de flores produzidas por
25 indivíduo durante a floração, mas não influenciou diretamente a produção de óvulos e
26 grãos de pólen, indicando que esses caracteres são mais conservativos nessa espécie
27 frente às mudanças de pluviosidade. Além da redução na produção de flores por
28 indivíduo, 43% das plantas no tratamento de seca extrema [SE] não produziram flores
29 pistiladas e 40% produziram apenas uma única flor pistilada durante toda a florada. A
30 associação da redução de flores por planta com a redução de plantas com flores
31 pistiladas, indicam que em um cenário de escassez de água a produção desse cultivo
32 agrícola pode ser fortemente comprometida.

1 Palavras-chave: abobrinha italiana, flores estaminadas, flores pistiladas, mudanças
2 climáticas, óvulo, pólen, seca

3 **INTRODUÇÃO**

4 Questões envolvendo mudanças climáticas e seus efeitos no nosso planeta têm
5 sido alvo de investigações recentes, já que as alterações globais acometerão
6 ecossistemas naturais e cultivos agrícolas, afetando diretamente a disponibilidade de
7 alimento, de água e, inclusive, a geração de energia (IPCC, 2021). Em um cenário em
8 que estas modificações não podem mais ser evitadas (IPCC, 2021), as pesquisas sobre o
9 tema passam a ter papel fundamental no entendimento dos impactos destas alterações
10 em cenários diversos, sendo capazes de auxiliar na contenção de danos causados ao
11 nosso planeta e em sua reversão, quando possível. Um dos aspectos de grande
12 preocupação, devido às incertezas inerentes aos modelos de previsão, é a esperada
13 mudança no regime de chuvas. O IPCC (2021) aponta diversos cenários futuros
14 possíveis, enfatizando o aumento da frequência de ocorrência de eventos extremos de
15 pluviosidade, incluindo secas e chuvas torrenciais.

16 Mudanças na disponibilidade de água podem significar um estresse para as
17 plantas e, como consequência, levar a mudanças no padrão de partição de recursos para
18 reprodução e crescimento (Lauder *et al.*, 2019). Diferentemente do carbono e de outros
19 elementos, a água não pode ser realocada. Deste modo, quando há escassez hídrica, seu
20 suprimento para as flores ocorre às custas do crescimento e manutenção dos órgãos
21 vegetativos. Sendo assim, o período e a severidade da seca podem afetar
22 significativamente o investimento em caracteres reprodutivos (Berny Mier y Teran *et*
23 *al.*, 2019), especialmente em plantas de ciclo curto, que tendem a partir mais recursos
24 para a reprodução quando estão em condições de estresse (Lauder *et al.*, 2019). Há
25 grande demanda por fotoassimilados para sustentar ativo o transporte de água para as
26 flores através do floema (De la Berra & Nobel, 2004). Assim, o impacto da seca tende a
27 ser maior quando esta ocorre na época da floração (Chiarello & Gulmon, 1991;
28 Passioura, 1996; Nam *et al.*, 2001). O fato de as flores serem custosas para o balanço
29 hídrico da planta é demonstrado a partir de padrões geográficos de alocação sexual em
30 relação ao estresse hídrico (Galen, 2005). A hipótese do custo de recursos, “resource-
31 cost hypothesis”, (Galen, 1999) postula que, quando os custos de alocação de recursos
32 para produção e manutenção de flores têm consequências significativas sobre o

1 desempenho das plantas, pode haver redução no anúncio floral, contrariando a seleção
2 exercida por polinizadores.

3 Para espécies vegetais, o período e a intensidade das chuvas são críticos para a
4 produção de sementes e frutos (Passioura, 1996). Quando eventos extremos de chuvas
5 acentuadas ou secas intensas coincidem com o período de polinização de certos cultivos
6 podem ocorrer perdas catastróficas nas colheitas, sendo a seca uma das principais
7 causadoras de perdas históricas na produção agrícola (Ceccarelli & Grando, 1996;
8 Cushman, 2001).

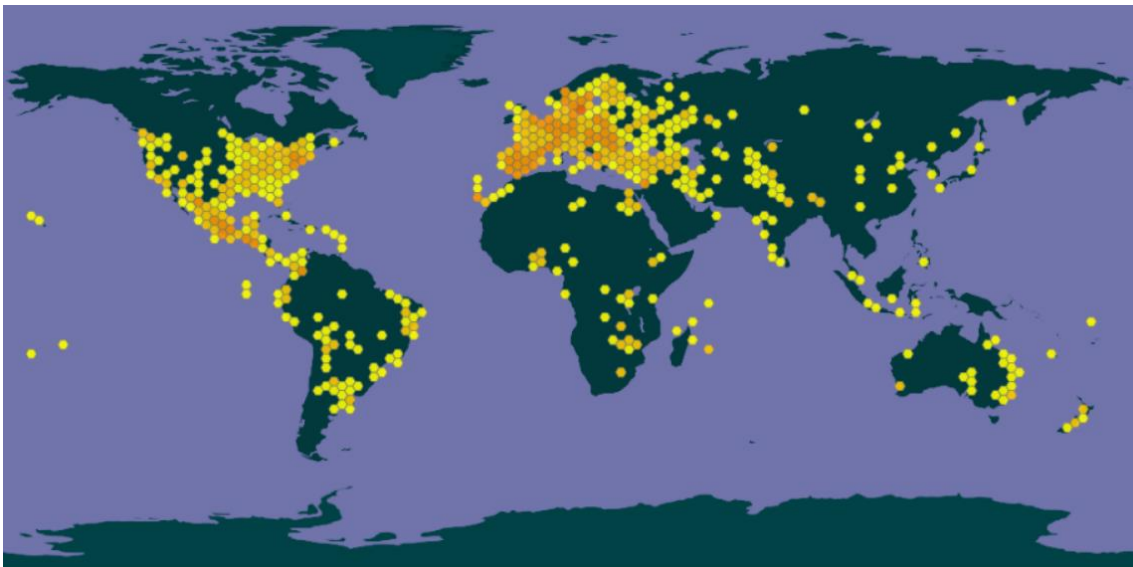
9 Reduções no regime de chuvas tendem a levar a uma menor distribuição de
10 recursos para a reprodução (Lemoine *et al.*, 2013), podendo levar à produção de menos
11 flores (Burkle & Runyon, 2016; Descamps *et al.*, 2018; Glenny *et al.*, 2018; Descamps
12 *et al.*, 2020) ou flores com características modificadas que podem impactar diretamente
13 o sucesso reprodutivo. Dentre elas, podemos destacar a redução no tamanho do ovário
14 acompanhada da redução na quantidade de óvulos (Rapoport *et al.*, 2019), ou ainda, em
15 alguns casos, apenas a diminuição do número de óvulos (Cariveau *et al.*, 2004).

16 A qualidade e a quantidade de grãos de pólen também podem ser limitadas pela
17 disponibilidade de água (Wilson Rankin *et al.*, 2020), já que estas características são
18 influenciadas pela umidade e temperatura do ambiente (Pacini & Dolferus, 2019).
19 Condições de estresse causadas por fatores abióticos afetam todos os estágios de
20 desenvolvimento dos gametas masculinos (Mesihovic *et al.*, 2016). Ainda que estudos
21 evidenciem o controle da planta mãe na hidratação dos grãos de pólen, em um indivíduo
22 submetido a condições de estresse hídrico, a desidratação do pólen pode estar ocorrendo
23 antes de sua dispersão. Este estado precoce pode levar a mudanças na viabilidade dos
24 grãos pólen e, portanto, afetar a reprodução das espécies vegetais (Pacini & Dolferus,
25 2019).

26 Sendo assim, em uma perspectiva ecológica, é possível que as mudanças de
27 pluviosidade associadas às mudanças climáticas levem a importantes alterações nas
28 características das espécies vegetais, podendo impactar diretamente seu desempenho
29 através da redução de suas progênes, com potenciais consequências negativas para a
30 manutenção dessas populações a longo prazo. Em uma perspectiva agrícola, é possível
31 que essas mudanças de pluviosidade levem à redução na produção de frutos em cultivos,
32 com possíveis impactos econômicos e sociais relevantes em cenários futuros. Nesse

1 estudo, exploramos as possíveis consequências das alterações de pluviosidade previstas
2 pelo IPCC (AR-6, 2021) sobre o investimento em caracteres reprodutivos vegetais de
3 *Cucurbita pepo* L. Membro da família Cucurbitaceae, cujas espécies são cultivadas há
4 mais de 10.000 anos nas Américas (Krimer-Malešević *et al.*, 2011), *C. pepo* é cultivada
5 atualmente em todos os continentes (Figura 1). No Brasil, ela está entre as dez culturas
6 de maior produção e maior valor econômico (Filgueira, 2003; Torezani, 2015), sendo a
7 região Sudeste sua principal produtora (Serra & Campos, 2010; IBGE, 2017). Sendo
8 assim, nosso objetivo foi investigar se mudanças no regime hídrico afetam a produção
9 de flores e os caracteres reprodutivos femininos e masculinos nessa importante espécie
10 agrícola.

11



12

13 Figura 1. Distribuição mundial de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). Fonte: *Cucurbita pepo* L. in GBIF
14 Secretariat (2022). GBIF Backbone Taxonomy.

15 Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> acessado via GBIF.org em 22/01/2023.

16

17

18 MATERIAL E MÉTODOS

19 *Espécie vegetal*

20 Com hábito prostrado e ciclo de vida anual, *C. pepo* (Cucurbitaceae) é uma
21 espécie adequada ao clima subtropical e temperado (Nepi *et al.*, 2001) e altamente
22 dependente da polinização por animais para sua reprodução (Passarelli, 2002). Seu
23 principal recurso floral é o néctar, explorado principalmente por abelhas, sendo as

1 principais polinizadoras pertencentes ao gênero *Melipona* (Serra & Campos, 2010).
2 Suas flores possuem corola campanulada, de cor amarela e são unissexuais, sendo que
3 as flores pistiladas possuem ovário ínfero, trilocular e estigma com três lóbulos que se
4 sustentam em três estiletos; e as flores estaminadas possuem androceu formado por
5 cinco estames, cujos filetes e anteras são unidos entre si (Nepi & Pacini, 1993;
6 Passarelli, 2002; Baptista, 2016).

7

8 *Produção das mudas*

9 Realizamos a pesquisa durante o ano de 2021, em casa de vegetação da
10 Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, cidade de Botucatu, São
11 Paulo, Brasil. Adquirimos as sementes de *Cucurbita pepo* L. cultivar Caserta da
12 empresa Horticerres®, lote 033712 referente a safra de 1028/2018 com germinação de
13 90% e pureza de 99% e de origem brasileira, em lojas especializadas em cultivo de
14 hortaliças na cidade de Botucatu. A cultivar escolhida para este estudo tem hábito de
15 crescimento em moita e é mais bem adaptada a temperaturas quentes e amenas
16 (Horticerres, 2020/2021).

17 Para o cultivo, utilizamos sacos de 6L (25 x 25 cm) contendo 1,67 Kg de
18 substrato Carolina Soil®, misturados com 4 g de Superfosfato Simples (SSP), 4 g de
19 Termofosfato Master, 1 g de cloreto de potássio (KCl) e 1,5 g de nitrato de amônio
20 (NH_4NO_3). Realizamos este procedimento a fim de evitar que os resultados fossem
21 influenciados por deficiência de nutrientes.

22 Medimos a capacidade de campo do substrato através da quantidade máxima de
23 água que o solo é capaz de reter após o escoamento do excesso (Mantovani *et al.*, 2009).
24 Para isso, utilizamos um volume conhecido de água e regamos lentamente 40 sacos de
25 cultivo até que houvesse a saída de água através de seus furos, devolvendo o excesso ao
26 substrato duas vezes, a fim de assegurar máxima retenção da água por ele. O volume de
27 água que sobrou após as repetições foi descontado do montante inicialmente colocado
28 nos sacos de cultivo, resultando na capacidade de campo do substrato de, em média, 278
29 ml. Plantamos três sementes de abobrinha italiana por saco (n= 360), que foram
30 mantidos em temperatura variando entre 26-30°C e regados diariamente com 278 ml,
31 até que suas primeiras folhas, os nomofilos, estivessem completamente expandidas.

1 Neste momento, realizamos o desbaste, mantendo apenas uma muda, de tamanho
2 médio, em cada saco de cultivo para dar continuidade ao experimento (n= 120).

3

4 *Delineamento experimental*

5 Instalamos o experimento em três bancadas centrais, dentro da casa de
6 vegetação, formando seis blocos de 20 sacos cada um, com o intuito de homogeneizar
7 possíveis interferências do ambiente em nossos experimentos (Figura 2A). Conforme o
8 crescimento das mudas, tutoramos as plantas utilizando barbantes amarrados na base de
9 seus caules para que crescessem perpendicularmente ao chão da casa de vegetação. Essa
10 intervenção foi realizada com o intuito de evitar que as mudas afetassem a quantidade
11 de luz recebida por suas vizinhas, diminuindo a interferência no experimento.

12 Designamos as plantas aleatoriamente (por sorteio) aos quatro tratamentos, que
13 foram definidos de acordo com a quantidade de água utilizada para irrigação do
14 substrato (n= 30 plantas/tratamento), simulando distintos cenários de pluviosidade
15 previstos pelo IPCC (2021) para as próximas décadas:

16 *Tratamento [PM]: 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em*
17 *Botucatu - Controle*

18 Este tratamento foi idealizado como um controle, simulando o cultivo em
19 condições naturais de pluviosidade na região de Botucatu (SP) no mês de setembro, o
20 mais indicado para a semeadura de *C. pepo* na região. Para o cálculo de quantidade de
21 água que deveria ser utilizada na rega de cada um dos sacos de cultivo, utilizamos os
22 dados de precipitação do mês de setembro entre os anos de 1973 e 2013, obtidos na
23 Estação Meteorológica do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade
24 de Ciências Agrônômicas (UNESP – Câmpus de Botucatu). Considerando os dados de
25 pluviosidade média mensal destes 40 anos (a quantidade de água em mm- total sem
26 levar em conta o saco de cultivo dado bruto), calculamos sua média diária em mm/m², a
27 qual foi convertida para volume em litros, após a padronização relativa à área da
28 superfície do saco de cultivo. Obtivemos o valor de 177 ml referente à pluviosidade
29 ponderada para a área do saco de cultivo. Este valor foi aplicado diariamente totalizando
30 5 310 ml mensais.

31 *Tratamento [CE]: Chuva extrema*

1 Este tratamento foi pensado a fim de simular uma condição de aumento
2 exacerbado de pluviosidade. Os indivíduos foram regados diariamente com 278 ml de
3 água, valor baseado na capacidade de campo média do substrato medida anteriormente,
4 totalizando 8 340 ml mensais.

5 *Tratamento [70% PM]: 70% da pluviosidade média mensal do mês de setembro*
6 *em Botucatu*

7 Os indivíduos submetidos a este tratamento foram regados diariamente com 124
8 ml de água, valor definido a fim de simular uma redução de 30% da pluviosidade. Para
9 isso, subtraímos 30% do volume de água aplicado no tratamento [PM] e chegamos a
10 124 ml de água para rega diária do substrato, totalizando 3 720 ml mensais.

11 *Tratamento [SE]: Seca extrema*

12 Neste tratamento os indivíduos não foram regados diariamente, ficando sem
13 irrigação até que 70% das plantas apresentassem sinais de murcha em suas folhas
14 (Figura 2B). Em seguida, as plantas desse tratamento foram regadas com 278 ml de
15 água, valor baseado na capacidade de campo média do substrato medida anteriormente,
16 a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguidos de chuvas intensas.
17 Diferentemente dos outros grupos, neste tratamento a frequência das regas não foi
18 diária, sendo feita em apenas 4 momentos durante toda a floração, totalizando 1 112 ml
19 mensais de água.

20

21 *Produção de flores*

22 Neste estudo, investigamos como a produção de flores pistiladas e estaminadas
23 de *C. pepo* pode ser afetada por distintos cenários de regime hídrico. Além disso,
24 investigamos também se essas condições afetam o investimento em caracteres
25 reprodutivos, incluindo o ovário e as estruturas portadoras de gametas em flores
26 pistiladas e estaminadas, o que poderia afetar duplamente o sucesso reprodutivo desta
27 espécie vegetal.

28 Registramos o número total de flores abertas/indivíduo/dia e o número total de
29 flores produzidas por indivíduo ao longo da floração, para flores pistiladas e
30 estaminadas de *C. pepo* (para detalhes sobre o tamanho amostral, ver Tabela 1).
31 Adicionalmente, calculamos a razão entre o número de flores pistiladas e estaminadas

1 produzidas por planta. Além disso, classificamos as plantas submetidas a cada
2 tratamento em categorias de acordo com o número total de flores (pistiladas ou
3 estaminadas, separadamente) que cada planta produziu, utilizando seis categorias: (a)
4 zero flores; (b) uma flor; (c) duas flores; (d) de três a cinco flores; (e) de seis a dez
5 flores; e (f) de onze a quinze flores.

6

7 *Investimento em caracteres reprodutivos*

8 Coletamos os ovários de 82 flores frescas (n= 82 plantas, 13-28 plantas/
9 tratamento). Fixamos os ovários em álcool etílico a 70% e depois os seccionamos
10 longitudinalmente nas paredes ovarianas (Figura 2C). Contamos todos os óvulos de um
11 dos três lóculos do ovário e estimamos o número total de óvulos por flor. Utilizamos a
12 fórmula $\pi \times r^2 \times h$ para calcular o volume do ovário, sendo r o raio do ovário e h seu
13 comprimento.

14 Coletamos anteras de 116 flores frescas (n= 29 plantas/ tratamento).
15 Armazenamos as mesmas em solução de carmim acético com volume conhecido e
16 padronizado. Separamos os grãos de pólen das anteras com o auxílio de um agitador.
17 Usamos uma alíquota de 5 μ l para preparo das lâminas, a fim de estimarmos o total de
18 grãos de pólen por flor e de avaliarmos a sua viabilidade. A viabilidade foi avaliada
19 através da diferença de coloração, do formato e do tamanho dos grãos de pólen (Kearns
20 & Inouye, 1993). Utilizamos fotografias feitas em fotomicroscópio de luz Leica DMR
21 com câmera acoplada, para medir o diâmetro de cinco grãos de pólen viáveis de 24
22 plantas (n= 06 plantas/tratamento) (Figura 2D).

23

24 *Análises estatísticas*

25 Para análise dos dados utilizamos modelos, sendo a escolha do mais
26 parcimonioso realizada a partir de seleção de modelos baseada no Critério de
27 Informação de Akaike (AIC) (ver seleção de modelos nas tabelas 1 a 6 do Apêndice).

28 Usamos modelo linear misto (LMM) com máxima verossimilhança restrita
29 (REML) para análise do número total de flores pistiladas e estaminadas produzidas por
30 indivíduo ao longo do período reprodutivo em função dos tratamentos aplicados.

Figura suprimida

1 Figura 2. Indivíduos de *Cucurbita pepo* L. cultivados em casa de vegetação e flores pistiladas e
2 estaminadas. (A) Mudanças sem sinais de murchamento. (B) Mudanças apresentando sinais de murchamento.
3 (C) Visão frontal de uma flor pistilada, com detalhe na parte superior direita mostrando um corte
4 transversal do ovário. (D) Visão frontal de uma flor estaminada, com detalhe na parte superior direita
5 mostrando um grão de pólen. Escala: (A e B)= 12,5 cm, (C)= 0,61 cm e (D)= 0,55 cm.

6

7 Consideramos tratamento e sexo da flor como variáveis fixas e plantas e blocos
8 como variáveis aleatórias. Adicionalmente, utilizamos modelo linear generalizado misto
9 (GLMM) com distribuição de erro Gamma para avaliar se os diferentes tratamentos
10 afetaram a razão entre o número de flores pistiladas e estaminadas produzidas por
11 planta. Transformamos os dados para escala logarítmica. Consideramos tratamento
12 como variável fixa e plantas e blocos como variáveis aleatórias. Além disso, utilizamos
13 qui-quadrado para avaliar se plantas submetidas aos diferentes tratamentos
14 apresentaram diferentes frequências relativas de quantidade de flores pistiladas e
15 estaminadas produzidas.

16 Utilizamos LMMs com máxima verossimilhança restrita (REML) para analisar
17 se os tratamentos aplicados afetaram o número, a viabilidade e o diâmetro de grãos de

1 pólen produzidos por flor. Consideramos tratamento como variável fixa e, para as duas
2 primeiras variáveis, blocos como variável aleatória, e para a última variável, plantas e
3 blocos como variáveis aleatórias.

4 Utilizamos GLMM com distribuição de erro Gamma para analisar se os
5 tratamentos simulando diferentes condições de pluviosidade afetaram o volume do
6 ovário das flores pistiladas. Consideramos tratamento como variável fixa e plantas e
7 blocos como variáveis aleatórias. Por fim, utilizamos LMM com máxima
8 verossimilhança restrita para analisar se os tratamentos aplicados afetaram o número de
9 óvulos produzidos por flor. Consideramos tratamento como variável fixa e blocos como
10 variável aleatória.

11 Todas as análises e gráficos foram realizados no ambiente computacional R (R
12 Core Team, 2021) com os seguintes pacotes adicionais: car (Fox & Weisberg, 2019),
13 dplyr (Wickham *et al.*, 2021), emmeans (Lenth, 2020), fitdistrplus (Delignette-Muller &
14 Dutang, 2015), forcats (Wickham, 2022), ggplot2 (Wickham, 2016), glmmADMB
15 (Fournier *et al.*, 2012), actuar (Dutang *et al.* 2008), lattice (Sarkar, 2008), lme4 (Bates *et*
16 *al.*, 2015), MASS (Venables & Ripley, 2002), R2admb (Bolker *et al.*, 2020), lmerTest
17 (Kuznetsova, *et al.*, 2017), e viridis (Garnier *et al.*, 2021).

18

19 **RESULTADOS**

20 *Produção de flores*

21 O tratamento [70% PM], levou à redução no número de flores pistiladas
22 produzidas por planta, em comparação ao controle [PM] ($t= 2,877$; $p < 0.05$; Figura
23 3A). Já o tratamento de seca extrema [SE] levou a uma redução apenas no número de
24 flores estaminadas produzidas por planta, em comparação ao controle [PM] ($t= 4,137$; p
25 < 0.05 ; Tabela 1; Figura 3B; ver estatística detalhada na Tabela 7 do Apêndice).

26

27 Tabela 1. Número de flores pistiladas e estaminadas de *Cucurbita pepo* L. abertas por
28 individuo por dia e por planta durante toda a floração. Os quatro tratamentos são
29 referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177
30 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro
31 em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva

1 extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da
 2 pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até
 3 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278
 4 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas.
 5 Valores apresentados como média e desvio padrão.

Tratamento	PM	CE	70% PM	SE
<i>Flores pistiladas</i>				
Nº flores/ dia	4,9 ± 2,0	6,1 ± 1,7	3,0 ± 0,8	2,0 ± 1,1
Nº flores/ planta	104 ± 3,1	172 ± 3,1	58 ± 3,2	8 ± 3
<i>Flores estaminadas</i>				
Nº flores/ dia	9,9 ± 2,6	9,7 ± 2,3	9,4 ± 2,1	7,56 ± 2,1
Nº flores/ planta	259 ± 3,2	264 ± 3,1	245 ± 3,2	189 ± 3,1

6

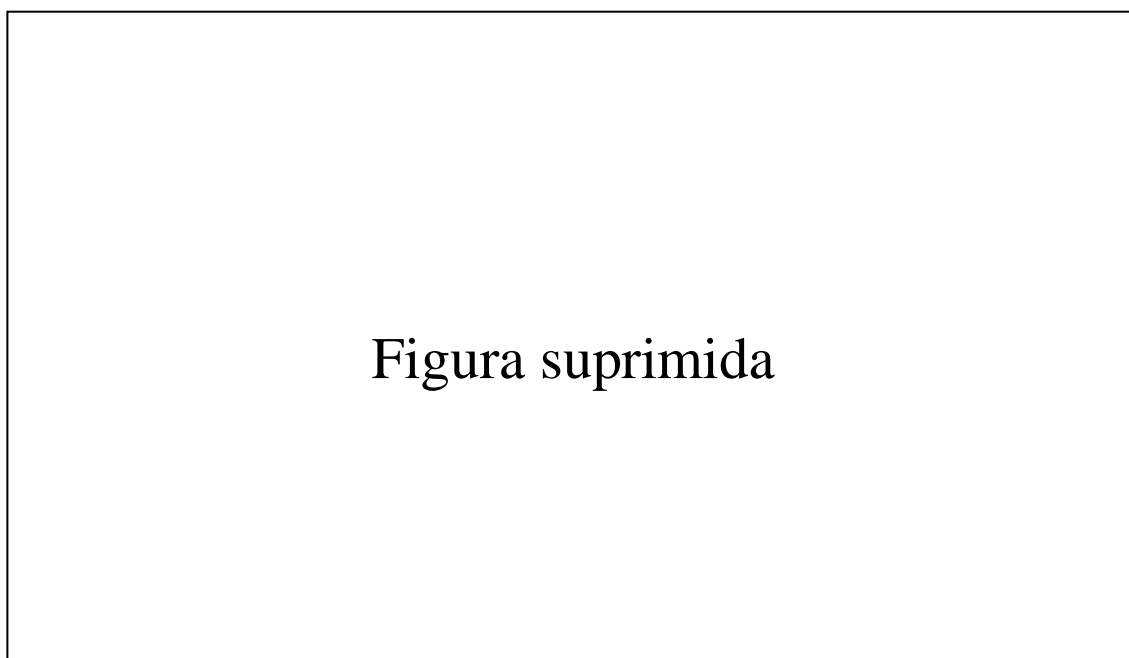
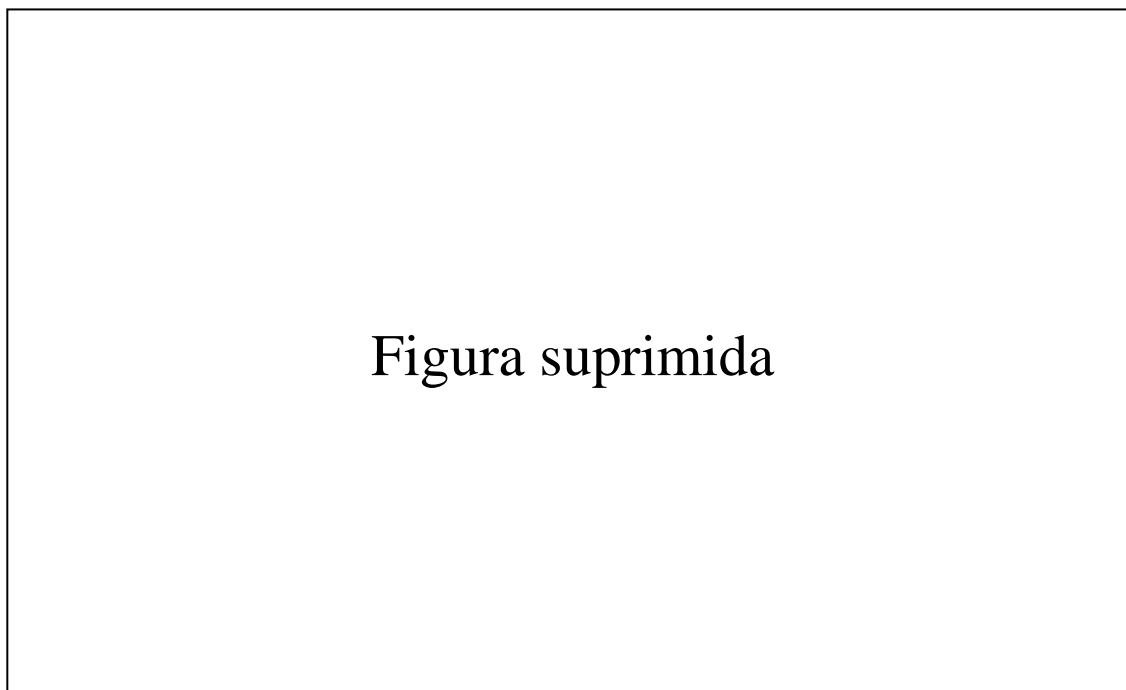


Figura suprimida

7 Figura 3. Número total de flores A) pistiladas (♀) e B) estaminadas (♂) produzidas por planta durante a
 8 floração por planta de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). Os quatro tratamentos são referentes a
 9 variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a
 10 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml
 11 diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma
 12 redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação
 13 até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de
 14 simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Os gráficos mostram a mediana
 15 (linha horizontal atravessando a caixa), o 25º e 75º percentil (limites inferior e superior das caixas), as
 16 caudas inferiores e superiores, que correspondem aos menores e maiores dados distantes da caixa a menos

1 do que 1.5 vez da distância interquartil, e os “outliers”. Os gráficos mostram a mediana (linha horizontal
2 atravessando a caixa), o 25° e 75° percentil (limites inferior e superior das caixas), as caudas inferiores e
3 superiores, que correspondem aos menores e maiores dados distantes da caixa a menos do que 1.5 vez da
4 distância interquartil, e os “outliers”.

5 O tratamento de seca extrema [SE] levou à diminuição da razão de flores
6 pistiladas/ estaminadas produzidas por planta quando comparado a [PM] ($z = -2,99$; $p <$
7 $0,05$; Figura 4; ver estatísticas detalhadas na Tabela 8 do Apêndice).



8 Figura 4. Razão entre o número de flores pistiladas e estaminadas produzidas por planta de *Cucurbita*
9 *pepo* L. (Cucurbitaceae) (em escala logarítmica). Os quatro tratamentos são referentes a variações no
10 regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da
11 pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente,
12 correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de
13 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de
14 seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular
15 eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Os gráficos mostram a mediana (linha
16 horizontal atravessando a caixa), o 25° e 75° percentil (limites inferior e superior das caixas), as caudas
17 inferiores e superiores, que correspondem aos menores e maiores dados distantes da caixa a menos do que
18 1.5 vez da distância interquartil, e os “outliers”.

19 Verificamos que o tratamento [SE] apresentou quantidades relativas de plantas
20 produzindo mais, ou menos, flores pistiladas (representadas pelas seis categorias
21 previamente definidas) diferentes das apresentadas pelo tratamento [PM] ($\chi^2 = 114,44$; p
22 $< 0,01$; ver estatísticas detalhadas na Tabela 9 do Apêndice). No tratamento [SE], 43%

1 das plantas não produziram nenhuma flor pistilada, 40% das plantas produziram apenas
 2 uma flor pistiladas, 10% produziram duas flores pistiladas, e apenas aproximadamente
 3 0,7% das plantas produziram entre três e cinco flores pistiladas, enquanto no controle
 4 [PM], não há plantas que não produziram flores pistiladas, 60% das plantas produziram
 5 de três a cinco flores pistiladas e aproximadamente 30% das plantas produziram de seis
 6 a dez flores pistiladas (Tabela 2; Figura 5A).

7 O tratamento [SE] também afetou a quantidade relativa de plantas produzindo
 8 mais, ou menos, flores estaminadas em relação às quantidades relativas apresentadas
 9 pelo tratamento [PM] ($\chi^2= 25,923$; $p < 0,01$; ver estatísticas detalhadas na Tabela 10 do
 10 Apêndice). No tratamento [SE], 20% das plantas produziram de três a cinco flores
 11 estaminadas e mais de 70% das plantas produziram de seis a dez flores estaminadas,
 12 enquanto no tratamento [PM], mais de 60% das plantas produziram de seis a dez flores
 13 estaminadas e mais de 30% das plantas produziram de 11 a 15 flores estaminadas
 14 (Tabela 2; Figura 5B).

15

16 Tabela 2. Quantidade relativa de plantas de *Cucurbita pepo* L. produzindo mais, ou
 17 menos, flores pistiladas e estaminadas em relação às quantidades relativas apresentadas
 18 nos tratamentos durante toda a floração. Os quatro tratamentos são referentes a
 19 variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml
 20 diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em
 21 Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva
 22 extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da
 23 pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até
 24 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278
 25 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas.

Classe	Pistiladas				Estaminadas			
	PM	CE	70%PM	SE	PM	CE	70%PM	SE
0	0	0	0	13	0	0	0	0
1	0	1	2	12	0	0	0	0
2	2	1	6	4	0	0	0	1
3 – 5	17	9	20	2	2	0	1	6
6 – 10	11	19	2	0	18	17	23	22
11 - 15	0	0	0	0	10	13	6	1

Figura suprimida

1 Figura 5. Frequência de plantas de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) apresentando cada categoria de
2 número de flores abertas durante a floração para flores A) pistiladas (♀) e B) estaminadas (♂). Os quatro
3 tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml
4 diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu
5 (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml
6 diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para
7 Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da
8 irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas.

9

Investimento em caracteres reprodutivos

Os tratamentos simulando distintas condições de regime hídrico não afetaram o número total de grãos de pólen produzidos por flor, sua viabilidade ou o diâmetro dos mesmos ($p > 0,05$; Tabela 3; ver estatística detalhada na Tabela 5).

Tabela 3. Total estimado de grãos de pólen, sua viabilidade e diâmetro em flores estaminadas de *Cucurbita pepo* L. Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Valores apresentados como média e desvio padrão.

Tratamento	PM	CE	70% PM	SE
Nº plantas	29	29	29	29
Nº de grãos de pólen	38621,2 ± 13868,42	37861,4 ± 14050,2	38528,9 ± 13358,4	37979,6 ± 13355,7
Viabilidade dos grãos de pólen (%)	95 ± 5,8	94,2 ± 8,8	96,75 ± 2	94,5 ± 5,2
Diâmetro dos grãos de pólen (n=6 plantas)	149,9 ± 5,6	150 ± 5,5	150 ± 5,6	151 ± 4

Similarmente, os tratamentos aplicados também não afetaram o volume do ovário e o número de óvulos produzidos por flor ($p > 0,05$; Tabela 4; ver estatística detalhada na Tabela 5).

Tabela 4. Volume do ovário e número estimado de óvulos em flores pistiladas de *Cucurbita pepo* L. Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de

1 setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram
 2 sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos
 3 de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Valores apresentados como média e
 4 desvio padrão.

Tratamento	PM	CE	70% PM	SE
Nº plantas	19	23	14	5
Volume do ovário (mm ²)	5,4±2,6	5,6±2,7	5,4±2,6	5,5±2,6
Nº de óvulos	494,7±140,7	491,4±141	490,8±139,2	491,3±144,7

5

6

7 Tabela 5. Resultados da estatística representados por valores de T ou Z e P para o nº de
 8 grãos de pólen, viabilidade dos grãos de pólen, diâmetro dos grãos de pólen, volume do
 9 ovário e nº de óvulos. Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime
 10 hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a
 11 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE=
 12 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml
 13 diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de
 14 setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram
 15 sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos
 16 de seca prolongada seguido de chuvas intensas.

Variável	T	P valor
<i>Nº de grãos de pólen</i>		
PM – SE	-0,637	0,92
PM - 70% PM	-0,996	0,75
PM – CE	-0,177	0,99
<i>Viabilidade dos grãos de pólen</i>		
PM – SE	0,346	0,99
PM - 70% PM	-1,079	0,70
PM – CE	0,501	0,96
<i>Diâmetro dos grãos de pólen</i>		
PM – SE	1,781	0,32
PM - 70% PM	1,556	0,43
PM – CE	1,600	0,41
Variável	Z	P valor
<i>Volume do ovário</i>		
PM – SE	-0,471	0,97
PM - 70% PM	-0,376	0,98
PM – CE	-2,110	0,15
<i>Nº de óvulos</i>		

PM – SE	2,251	0,12
PM - 70% PM	-0,881	0,82
PM – CE	0,536	0,95

1

2

3 **DISCUSSÃO E CONCLUSÃO**

4 Neste estudo, vimos que eventos extremos de diminuição da quantidade de água
5 disponível aos indivíduos levou à redução do número de flores. Flores pistiladas foram
6 mais afetadas pela diminuição excessiva no regime hídrico, o que pode ser associado a
7 uma maior demanda de água destas, quando comparadas às flores estaminadas. A
8 produção de maior volume de néctar nas flores pistiladas, quando comparada à das
9 flores estaminadas (Nepi *et al.*, 2001; Dmitruk & Weryszko-Chmielewska, 2013;
10 Frigero *et al.* 2022), além do ovário suculento e bem desenvolvido (Free, 1993), podem
11 representar drenos substanciais, de modo que quando houve restrição hídrica acentuada,
12 muitas plantas não emitiram flores pistiladas (43%) e o restante das plantas, emitiu uma
13 quantidade significativamente menor de flores pistiladas.

14 A disponibilidade hídrica pode afetar diretamente a expressão sexual de
15 cucurbitáceas, sendo que há maior quantidade de flores estaminadas em condições de
16 baixa disponibilidade de água (Menezes, 1994; Ramos *et al.*, 2010), o que pode
17 comprometer a produção de frutos devido à diminuição da razão entre flores pistiladas e
18 estaminadas, como observada neste estudo. Entretanto, observamos que este aumento da
19 razão entre flores pistiladas e estaminadas não se deve ao aumento na produção de
20 flores estaminadas, mas sim, à redução mais acentuada da produção de flores pistiladas
21 por planta em condições de seca extrema.

22 Adicionalmente, a redução no número de flores estaminadas *per se* pode reduzir
23 a probabilidade de as flores pistiladas formarem fruto (Campbell *et al.*, 2012).
24 Naturalmente, a redução ou, em condições mais extremas, a não produção de flores
25 pistiladas durante a floração leva à diminuição na produção de frutos em condições de
26 cultivo, conseqüentemente afetando a reprodução de espécies vegetais e sua capacidade
27 de gerar descendentes.

28 O requerimento hídrico de um dado cultivo depende de sua demanda
29 evapotranspirativa, que é influenciada diretamente pelas condições climáticas (Aquino,

1 2019). Deste modo, se cenários de escassez hídrica intensa como os simulados do
2 tratamento [SE] desse estudo realmente se concretizarem no futuro, a manutenção de
3 condições favoráveis para a produção de frutos em larga escala demandará irrigação
4 mais frequente e abundante das culturas. Isso, além de encarecer sua produção de
5 maneira geral, poderá intensificar a situação de escassez de recursos hídricos que já
6 acomete o planeta (IPCC, 2021). No caso dos pequenos agricultores, que são
7 responsáveis pela maior parte da produção de abobrinha italiana (IBGE, 2017), esse
8 cenário pode ser ainda mais preocupante. A agricultura familiar é responsável pela
9 produção de 77% dos alimentos que chegam à mesa do povo brasileiro (IBGE, 2017).
10 Por tanto, dificuldades no cultivo de hortaliças, que equivalem a 63% de suas produções
11 (IBGE, 2017), podem ter consequências econômicas para estes agricultores e levar a
12 problemas de condições de crescentes de insegurança alimentar no país.

13 Já em condições em que a redução das chuvas não é tão severa, a quantidade de
14 flores produzidas pelos indivíduos permanece inalterada, demonstrando a adaptação de
15 *C. pepo* nessas condições. Nestes cenários, a redução da disponibilidade de água não
16 estaria sendo o suficiente para causar mudanças na quantidade de flores produzidas
17 pelos indivíduos durante toda a floração. Por outro lado, em condições de aumento da
18 pluviosidade, há uma maior produção de flores durante toda a floração.

19 Apesar de observamos um aumento na quantidade de flores produzidas durante a
20 floração nas plantas submetidas ao tratamento [CE], o aumento de pluviosidade pode
21 afetar negativamente a reprodução de *C. pepo* e sua produção de frutos. Grandes
22 quantidades de água precipitada podem levar a modificações na viabilidade do pólen
23 (Sun *et al.*, 2008) através de seu contato com a água (Akamine & Girolami, 1959).
24 Ainda, grandes quantidades de chuva podem diluir o néctar (Eisikowitch & Woodell
25 1975), afetando a atração dos polinizadores (Cnaani *et al.*, 2006) que teriam que coletar
26 maiores quantidades do recurso para um aporte calórico semelhante. Ainda, em um
27 contexto de cultivo, o aumento na pluviosidade poderia tornar necessária fertilização
28 mais frequente das plantações para manter sua produtividade, já pois o aumento de água
29 poderia levar a lixiviação do solo e de nutrientes importantes o crescimento das plantas.

30 Nossos resultados demonstram que a produção de estruturas portadoras de
31 gametas de *C. pepo* não foi afetada, quantitativamente e qualitativamente, pelos
32 diferentes tratamentos em que as plantas foram submetidas. Segundo a literatura, era
33 esperado que a redução no regime hídrico afetasse características dos grãos de pólen,

1 principalmente sua viabilidade que pode ser comprometida em estados de estresse da
2 planta mãe, sendo o pólen de *C. pepo* altamente sensível a mudanças ambientais (Pacini
3 & Dolferus, 2019). Entretanto, considerando que a corola tem importância na
4 conservação da hidratação do pólen (Gay *et al.*, 1987; Nepi & Pacini, 1993) e que *C.*
5 *pepo* apresenta flores com corola bastante desenvolvida, é possível que esse fator tenha
6 permitido que as características do pólen tenham se mantido as mesmas à despeito do
7 estresse da planta mãe. Além disso, mecanismos fisiológicos vegetais para lidar com a
8 escassez hídrica podem estar atuando na manutenção das estruturas portadoras dos
9 gametas de flores estaminadas. Em condições de déficit hídrico, o fechamento dos
10 estômatos ajuda a manter a hidratação do indivíduo e, por tanto, dos grãos.

11 Era esperado ainda que condições de seca ocasionassem redução do tamanho do
12 ovário, que poderia vir acompanhada de menores quantidades de óvulos produzidos
13 (Rapoport *et al.*, 2019). Entretanto, *C. pepo* apresentou uma tendência altamente
14 conservativa em relação à produção de seus caracteres reprodutivos neste cenário de
15 variação na disponibilidade hídrica. Ao mesmo tempo que outros caracteres
16 relacionados à reprodução, como o número de flores, mostraram maior plasticidade.

17 No caso da produção de estruturas portadoras de gametas, os mecanismos
18 usados pelas espécies vegetais para lidar com condições de estresse podem explicar essa
19 tendência conservativa vista neste estudo. Plantas estressadas antes do período de
20 florescimento podem se adaptar mais facilmente às novas condições ambientais
21 (Kuppler & Kotowska, 2021), diminuindo os efeitos da seca em seus indivíduos neste
22 contexto de redução da pluviosidade. Além disso, plantas de ciclo anual, como a
23 abobrinha, são capazes de ajustar seu metabolismo e desenvolvimento, diminuindo os
24 efeitos de estresses abióticos (Blumwald & Mittler, 2017) sobre seus caracteres
25 reprodutivos.

26 Ainda sabemos pouco sobre as implicações das respostas das flores ao estresse
27 hídrico para a evolução floral, em parte devido ao foco quase exclusivo dado aos
28 polinizadores como agentes de seleção de caracteres florais (revisado em Galen, 1999;
29 Galen, 2005). Mais recentemente, tem se percebido que o contexto abiótico em que
30 ocorre a polinização é mais do que uma fonte de ruído que dificulta a detecção de
31 seleção mediada por polinizadores, já que o estresse ambiental pode intensificar os
32 custos e reduzir os benefícios dos mutualismos de polinização, causando, inclusive, a
33 ruptura de interações mais especializadas (Peñuelas & Filella, 2001; Galen, 2005).

1 Podemos concluir que não houve efeito direto dos diferentes cenários de
2 pluviosidade sobre as estruturas portadoras de gametas de *C. pepo*, mas isso não quer
3 dizer que não haja consequências destes novos cenários de mudanças no regime hídrico
4 em sua reprodução. Em cenários de seca extrema, há uma diminuição substancial no
5 número de flores produzidas durante a floração. Pudemos observar uma situação
6 extrema neste trabalho, em que quase a metade dos indivíduos do tratamento de seca
7 extrema não produziram flores pistiladas, o que pode comprometer a produção de
8 descendentes. Essa diminuição na quantidade de flores pode comprometer a produção
9 de frutos devido a mudanças na razão entre flores pistiladas e estaminadas, prejudicando
10 a manutenção de áreas de cultivo. Neste novo cenário, a irrigação mais frequente seria
11 necessária para manter a produtividade da cultura, mas isso pode intensificar
12 problemáticas relacionadas à escassez de água e ao aumento do custo de produção,
13 afetando os produtores.

14

15 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 16 Aquino, F.C.F. (2019). Necessidade hídrica e adubação potássica no cultivo da
17 abobrinha em ambiente protegido. Monografia.
- 18 Akamine, E.K & Girolami, G. (1959). Pollination and fruit set in the yellow passion
19 fruit. Technical bulletin - Hawaii Agricultural Experiment Station, 39, 3–44.
- 20 Baptista, C.F. (2016). Polinização de *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) por *Melipona*
21 *quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em cultivo protegido.
22 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.
- 23 Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects
24 models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48.
- 25 Berny Mier y Teran, J.C., Konzen, E.R., Palkovic, A., Tsai, S.M., Rao, I.M., Beebe, S.,
26 & Gepts, P. (2019). Effect of drought stress on the genetic architecture of
27 photosynthate allocation and remobilization in pods of common bean (*Phaseolus*
28 *vulgaris* L.), a key species for food security. *BMC plant biology*, 19(1), 1-15.
- 29 Blumwald, E. & Mittler, R. (2017). Estresse abiótico. Em: Taiz, L. *Fisiologia e*
30 *desenvolvimento vegetal*. Porto Alegre: Editora Artmed. 6, 731-759.
- 31 Bolker, B., Skaug, H. & Laake, J. (2020). R2admb: 'ADMB' to R Interface Functions. R
32 package version 0.7.16.2.

- 1 Burkle, L.A., & Runyon, J.B. (2016). Drought and leaf herbivory influence floral
2 volatiles and pollinator attraction. *Global Change Biology*, 22(4), 1644-1654.
- 3 Campbell, L.G., Luo, J. & Mercer, K.L. (2012). Effect of water availability and genetic
4 diversity on flowering phenology, synchrony and reproductive investment in
5 summer squash. *Journal of Agricultural Science*, 151, 775–786.
- 6 Cariveau, D., Irwin, R.E., Brody, A. K., Garcia-Mayeya, L.S. & Von Der Ohe, A.
7 (2004). Direct and indirect effects of pollinators and seed predators to selection on
8 plant and floral traits. *Oikos*, 104(1), 15-26.
- 9 Ceccarelli, S. & Grando, S. (1996) Drought as a challenge for the plant breeder. *Plant*
10 *Growth Reg*, 20, 149-155.
- 11 Chiarello, N.R. & Gulmon, S.L. (1991) Stress effects on plant reproduction. Em:
12 Mooney, H.A., Winner, E.W. & Pell, E.J. *Responses of Plants to Multiple Stresses*.
13 Academic Press, New York, 162–188.
- 14 Cnaani, J., Thomson, J.D. & Papaj, D.R. (2006). Flower choice and learning in foraging
15 bumblebees: effects of variation in nectar volume and concentration. *Ethology* 112,
16 278–285.
- 17 Cushman, J.C. (2001). Osmoregulation in plants: implications for agriculture. *American*
18 *Zoologist*, 41, 758-769.
- 19 De la Berra, E. & Nobel, P.S. (2004) Nectar: properties, floral aspects and speculations
20 on origin. *Trends in Plant Science*, 9, 65–69.
- 21 Delyette-Muller, M.L. & Dutang, C. (2015). *Fitdistrplus*: An R package for fitting
22 distributions. *Journal of Statistical Software*, 64, 1–34.
- 23 Descamps, C., Quinet, M., Baijot, A. & Jacquemart, A.L. (2018). Temperature and
24 water stress affect plant–pollinator interactions in *Borago officinalis*
25 (Boraginaceae). *Ecology and Evolution*, 8(6), 3443-56.
- 26 Descamps, C., Marée, S., Hugon, S., Quinet, M. & Jacquemart, A.L. (2020).
27 Species-specific responses to combined water stress and increasing temperatures in
28 two bee-pollinated congeners (*Echium*, Boraginaceae). *Ecology and Evolution*,
29 10(13), 6549-61.
- 30 Dmitruk, M. & Weryszko-Chmielewska, E. (2013). The morphology and ultrastructure
31 of the nectaries of marrow (*Cucurbita pepo* L. convar. *giromontiina*). *Acta*
32 *Agrobotanica*, 66(3), 11–22.
- 33 Dutang, C., Goulet, V. & Pigeon, M. (2008). *actuar*: An R Package for Actuarial
34 Science. *Journal of Statistical Software*, 25(7), 1-37.

- 1 Eisikowitch, D. & Woodell, S.R.J. (1975). Some aspects of pollination ecology of
2 *Armeria Maritima* (Mill.) Willd. in Britain. *New Phytologist*, 74, 307–322.
- 3 Filgueira, F.A.R. (2003). *Novo manual de olericultura*. 2ª edição, Viçosa-MG, Editora
4 UFV.
- 5 Fournier, D.A., Skaug, H.J., Ancheta, J., Ianelli, J., Magnusson, A., Maunder, M.,
6 Nielsen, A. & Sibert, J. (2012). AD Model Builder: using automatic differentiation
7 for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models.
8 *Optimization Methods and Software*, 27, 233-249.
- 9 Fox, J. & Weisberg, S. (2019). *An {R} Companion to Applied Regression*, Third
10 Edition. Thousand Oaks CA: Sage.
- 11 Free, J.B. (1993). *Insect pollination of crops*. Second Edition. London: Academic Press,
12 Harcourt Brace Jovanovich, Publishers, 684.
- 13 Frigero, M.L.P., Balduino, H.K., Leite, K.M., Tunes, P., Boaro, C.S.F., Machado, S.R.
14 & Guimarães, E. (2022). Nectary size and nectar production in pistillate and
15 staminate flowers of *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). *The International Journal*
16 *of Plant Reproductive Biology*, 14(1), 23.
- 17 Galen, C. (1999). Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower
18 size and form within natural plant populations. *BioScience* 49, 631–640.
- 19 Galen, C. (2005). It never rains but then it pours: the diverse effects of water on flower
20 integrity and function. Em: *Reproductive allocation in plants*. Academic Press, 77-
21 95.
- 22 García, D. & Chacoff, N.P. (2007). Scale-dependent effects of habitat fragmentation on
23 hawthorn pollination, frugivory, and seed predation. *Conservation Biology*, 21(2),
24 400-11.
- 25 Garnier, S., Ross, N., Rudir, R., Camargo, A.P., Sciaini, M. & Scherer, C. (2021).
26 Rvision - Colorblind-Friendly Color Maps for R. R package version 0.6.2.
- 27 Gay, G., Kerhoas, C. & Dumas, C. (1987). Quality of a stress-sensitive *Cucurbita pepo*
28 L. pollen. *Planta*, 171, 82-87.
- 29 Glenny, W.R., Runyon, J.B. & Burkle, L.A. (2018). Drought and increased CO₂ alter
30 floral visual and olfactory traits with context-dependent effects on pollinator
31 visitation. *New Phytologist*, 220(3), 785-98.
- 32 Hortíceres Sementes. (2020/2021). *Catálogo completo*. Disponível em:
33 <https://www.horticeres.com.br/catalogos/> . Acesso em: 03/11/2022

- 1 IBGE – Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2017. Valor
2 da produção, Quantidade produzida, Estabelecimentos, Maior produtor. Disponível
3 em: <[https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/abobrinha/br...l](https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/abobrinha/br...)>.
4 Acesso em: 17/06/2022.
- 5 IPCC, 2021: Summary for Policymakers. Em: Climate Change 2021: The Physical
6 Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of
7 the Intergovernmental Panel on Climate Change [Masson-Delmotte, V., P. Zhai, A.
8 Pirani, S.L. Connors, C. Péan, S. Berger, N. Caud, Y. Chen, L. Goldfarb, M.I.
9 Gomis, M. Huang, K. Leitzell, E. Lonnoy, J.B.R. Matthews, T.K. Maycock, T.
10 Waterfield, O. Yelekçi, R. Yu, and B. Zhou (eds.)]. Cambridge University Press,
11 Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 3–32.
- 12 Kearns, C.A. & Inouye, D.W. (1993). Techniques for pollination biologists. University
13 press of Colorado.
- 14 Krimer-Malešević, V., Mađarev-Popović, S., Vaštag, Ž., Radulović, L., & Peričin, D.
15 (2011). Phenolic acids in pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. Em: Nuts and seeds
16 in health and disease prevention. Academic Press, 925-932.
- 17 Kuppler, J. & Kotowska, M.M. (2021). A meta-analysis of responses in floral traits and
18 flower–visitor interactions to water deficit. *Global Change Biology*.
- 19 Kuznetsova, A., Brockhoff, P.B. & Christensen, R.H.B. (2017). lmerTest Package:
20 Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software*, 82(13), 1-26.
- 21 Lauder, J.D., Moran, E.V., & Hart, S.C. (2019). Fight or flight? Potential tradeoffs
22 between drought defense and reproduction in conifers. *Tree physiology*, 39(7),
23 1071-1085.
- 24 Lemoine, R., Camera, S. L., Atanassova, R., Dédaldéchamp, F., Allario, T., Pourtau, N.,
25 Bonnemain, J.L., Laloi, M., Coutos-Thévenot, P., Maurosset, L., Facuher, M.,
26 Grousse, C., Lemonnier, L., Parrilla, J. & Durand, M. (2013). Source-to-sink
27 transport of sugar and regulation by environmental factors. *Frontiers in plant*
28 *science*, 4, 272.
- 29 Lenth, R.V. (2022). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R
30 package version 1.7.2.
- 31 Mantovani, E.C., Bernardo, S. & Palaretti, L.F. (2009). Irrigação, princípios e métodos.
32 Editora UFV, 3, 355.
- 33 Menezes, N.L. (1994). Fatores que afetam a expressão sexual em plantas de pepino.
34 *Ciência rural*, 24(1), 209-215.

- 1 Mesihovic, A., Iannacone, R., Firon, N., & Fragkostefanakis, S. (2016). Heat stress
2 regimes for the investigation of pollen thermotolerance in crop plants. *Plant*
3 *Reproduction*, 29, 93–105.
- 4 Muñoz, A., Neghme, C.L., Cavieres, L. & Kalin, M. (2005). Bottom-up effects of
5 nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a
6 high-Andean shrub. *Oecologia*, 143, 126-35.
- 7 Nam, N.H., Chauhan, Y.S. & Johansen, C. (2001). Effect of timing of drought stress on
8 growth and grain yield of extra-short duration pigeon pea lines. *The Journal of*
9 *Agricultural Science*, 136, 179–189.
- 10 Nepi, M., Pacini, E. (1993). Pollination, pollen viability and pistil receptivity in
11 *Cucurbita pepo*. *Annals of Botany*, 72(6), 527-536
- 12 Nepi M., Guarnieri, M. & Pacini, E. (2001). Nectar secretion, reabsorption and sugar
13 composition in male and female flowers of *Cucurbita pepo*. *International Journal of*
14 *Plant Sciences*, 162, 353–358.
- 15 Pacini, E. & Dolferus, R. (2019). Pollen Developmental Arrest: Maintaining Pollen
16 Fertility in a World With a Changing Climate. *Frontiers in Plant Science*, 10, 679.
- 17 Passarelli, L. (2002). Importancia de *Apis mellifera* L. en la producción de *Cucurbita*
18 *maxima* Duch. (Zapallito de tronco). *Investigación agraria. Producción y protección*
19 *vegetales*, 17(1), 5-14.
- 20 Passioura J.B. (1996). Drought and drought tolerance. *Plant Growth Reg*, 20, 79–83.
- 21 Peñuelas, J., & Filella, I. (2001). Responses to a warming world. *Science*, 294(5543),
22 793-795.
- 23 Phillips, B.B., Shaw, R.F., Holland, M.J., Fry, E.L., Bardgett, R.D., Bullock, J.M. &
24 Osborne, J.L. (2018). Drought reduces floral resources for pollinators. *Global*
25 *Change Biology*, 24, 3226–3235.
- 26 Ramos, S.R.R, Lima, N.R.S, Anjos, J.L, Carvalho, H.W.L, Oliveira, I.R, Sobral, L.F &
27 Curado, F.F. (2010). Aspectos técnicos do cultivo da abobora na região nordeste do
28 Brasil. Embrapa tabuleiros costeiros, 29. Em: Embrapa tabuleiros, Documento 154.
- 29 Rapoport, H.F., Pérez-López, D., Centeno, A., Vega Macías, V., Hidalgo Moya, J.J., &
30 Hidalgo Moya, J.C. (2019). Floral developmental failures and ovary size variability
31 in field-grown olive trees under water deficit. IX International Symposium on
32 Irrigation of Horticultural Crops, Italy.

- 1 R Core Team. (2021). R: A language and environment for statistical computing. R
2 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL [https://www.R-](https://www.R-project.org/)
3 [project.org/](https://www.R-project.org/).
- 4 Sarkar, D. (2008). Lattice: Multivariate Data Visualization with R. Springer, New York.
- 5 Serra, B. D. & Campos, L. A. D. O. (2010). Polinização entomófila de abobrinha,
6 *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). Neotropical Entomology, 39, 153-159.
- 7 Sun, J., Gong, Y., Renner, S.S. & Huang, S. (2008). Multifunctional bracts in the Dove
8 Tree *Davidia involucrata* (Nyssaceae: Cornales): rain protection and pollinator
9 attraction. The American Naturalist 171, 119–124.
- 10 Stiles F. G. (1992) Effects of a severe drought on the population biology of a tropical
11 hummingbird. Ecology 73, 1375–1390.
- 12 Torezani, K., Pires, C.; Laumann, R. & Sujii, E. (2015). Diversidade de abelhas em
13 cultura de aboboreira *Cucurbita pepo* L. no Distrito Federal: influência do sistema
14 de produção e da paisagem. Resumos do IX Congresso Brasileiro de Agroecologia
15 – Belém/PA, 10.
- 16 Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002). Modern Applied Statistics with S. Fourth
17 Edition. Springer, New York.
- 18 Wickham, H. (2016). ggplot2: Elegant graphics for data analysis. Springer-Verlag New
19 York.
- 20 Wickham, H., François, R., Henry, L. & Müller, K. (2021). dplyr: A Grammar of Data
21 Manipulation. R package version 1.0.7. <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>
- 22 Wickham, H. (2022). forcats: Tools for Working with Categorical Variables (Factors).
23 R package version 0.5.2. <https://CRAN.R-project.org/package=forcats>
- 24 Willmer, P. (2011). Pollination and floral ecology. Princeton University Press.
- 25 Wilson Rankin, E.E., Barney, S.K., & Lozano, G.E. (2020). Reduced water negatively
26 impacts social bee survival and productivity via shifts in floral nutrition. Journal of
27 Insect Science, 20(5), 15.

Apêndice - “**Influência de alterações no regime hídrico sobre caracteres reprodutivos de *Cucurbita pepo* L.**”

Tabela 1. Seleção de modelos lineares mistos (LMM) baseada no critério de informação de Akaike (AIC) em que o modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelos	AIC	BIC	logLik	Desvio	χ^2	GL	P
LMM.1= número total de flores ~ tratamento + sexo + tratamento*sexo + (1 planta) + (1 bloco)	1044,6	1082,9	-511,31	1022,6	14,762	3	<0,01
LMM.2= número total de flores ~ tratamento + sexo + (1 planta) + (1 bloco)	1053,4	1081,2	-518,69	1037,4			

Tabela 2. Seleção de modelos LMM baseada no critério de informação de Akaike (AIC) em que o modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
LMM.1 (total de grãos de pólen~ tratamento + (tratamento bloco))	2482,51
LMM.2 (total de grãos de pólen ~ tratamento + (1 bloco))	2466,69
LMM.3(total de grãos de pólen ~ tratamento + (1 bloco) + (1 bloco:tratamento))	2468,69

Tabela 3. Seleção de modelos LMM baseada no critério de informação de Akaike (AIC) em que o modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
LMM.1 (viabilidade dos grãos de pólen~ tratamento + (tratamento bloco))	761,69
LMM.2 (viabilidade dos grãos de pólen ~ tratamento + (1 bloco))	744,45
LMM.3(viabilidade dos grãos de pólen ~ tratamento + (1 bloco) + (1 bloco:tratamento))	746,45

Tabela 4. Seleção de modelos LMM baseada no critério de informação de Akaike (AIC) em que o modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
LMM.1 (diâmetro do grão de pólen ~ tratamento + (tratamento planta) + (tratamento bloco))	920,8742
LMM.2 (diâmetro do grão de pólen ~ tratamento + (1 planta) + (1 bloco))	897,2681
LMM.3 (diâmetro do grão de pólen ~ tratamento + (1 planta) + (1 planta:tratamento) + (1 bloco) + (1 planta:bloco))	901,2681

Tabela 5. Seleção de modelos LMM baseada no critério de informação de Akaike (AIC) em que o modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
GLMM.1 (volume do ovário ~ tratamento + (1 planta) + (1 bloco))	-1035,18
GLMM. 2(volume do ovário ~ tratamento + (1 planta) + (1 planta:tratamento) + (1 bloco) + (1 bloco:tratamento))	-1025,53

Tabela 6. Seleção de modelos LMM baseada no critério de informação de Akaike (AIC) em que o modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
LMM.1 (número de óvulos~ tratamento + (tratamento bloco))	1026,33
LMM.2 (número de óvulos~ tratamento + (1 bloco))	1009,65
LMM.3 (número de óvulos~ tratamento + (1 bloco) + (1 bloco:tratamento))	1011,65

Tabela 7. Resultados do LMM com máxima verossimilhança restrita (REML) baseado no modelo “número total de flores ~ tratamento + sexo da flor + tratamento*sexo da flor + (1|planta) + (1|bloco)”. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas; P= flores pistiladas; E= flores estaminadas; EP= erro padrão. Os valores de P em negrito foram considerados significativos (P < 0.05).

Comparação	Efeito do tratamento				Comparação	Efeito do sexo da flor			
	Estimativa	EP	T	P valor		Estimativa	EP	T	P valor
PM P - SE P	4,100	0,534	7,673	<0,0001	PM P- PM E	-4,7	0,534	-8,796	< 0,0001
PM P - 70% PM P	1,667	0,534	3,119	0,0110	SE P – SE E	-6,2	0,534	-11,603	< 0,0001
PM P – CE P	-1,400	0,534	-2,620	0,0460	70% PM P - 70% PM E	-5,73	0,534	-10,730	< 0,0001
SE P - 70% PM P	-2,433	0,534	-4,554	0,0001	CE P – CE E	-3,53	0,534	-6,612	< 0,0001
SE P – CE P	-5,500	0,534	-10,293	<0,0001					
70% PM P – CE P	-3,067	0,534	-5,739	<0,0001					
PM E - SE E	2,600	0,534	4,866	<0,0001					
PM E - 70% PM E	0,633	0,534	1,185	0,6368					
PM E – CE E	-0,233	0,534	-0,437	0,9721					
SE E - 70% PM E	-1,967	0,534	-3,680	0,0016					
SE E – CE E	-2,833	0,534	-5,302	<0,0001					
70% PM E – CE E	-0,867	0,534	-1,622	0,3684					

Tabela 8. Resultados do GLMM com distribuição de erro Gamma baseado no modelo “razão entre flores pistiladas e estaminadas ~ tratamento + (1|planta) + (1|bloco)”. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas; EP= erro padrão. Os valores de P em negrito foram considerados significativos ($P < 0.05$).

Comparação	Estimativa	EP	Z	P
PM - SE	-5,965	1,995	-2,99	0,02
PM - 70% PM	-0,771	0,892	-0,864	0,82
PM - CE	0,3	0,708	0,424	0,97
SE - 70% PM	5,195	2,05	2,534	0,06
SE - CE	6,266	1,977	3,169	<0,01
70% PM - CE	1,071	0,852	1,257	0,59

Tabela 9. Resultado do teste qui-quadrado para análise da frequência relativa de quantidade de flores pistiladas. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Os valores de P em negrito foram considerados significativos ($P < 0.05$).

Comparação	P ajustado
PM - SE	<0,01
PM - 70% PM	0,09
PM - CE	0,26
SE - 70% PM	<0,01
SE - CE	<0,01
70% PM - CE	<0,01

Tabela 10. Resultado do teste qui-quadrado para análise da frequência relativa de quantidade de flores estaminadas. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Os valores de P em negrito foram considerados significativos ($P < 0.05$).

Comparação	P ajustado
PM - SE	0,01
PM - 70% PM	1,00
PM - CE	1,00
SE - 70% PM	0,19
SE - CE	<0,01
70% PM - CE	0,51

Tabela 11. Resultados do LMM com máxima verossimilhança restrita (REML) baseado no modelo “número de grãos de pólen ~ tratamento + (1|bloco)”; “viabilidade dos grãos de pólen~ tratamento + (1|bloco)” e “diâmetro dos grãos de pólen ~ tratamento + (1|planta) + (1|bloco)”. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas; EP= erro padrão. Os valores de P em negrito foram considerados significativos ($P < 0.05$).

Comparação	Estimativa	EP	T	P valor
<i>Nº de grãos de pólen</i>				
PM – SE	-2162	3391	-0,637	0,92
PM - 70% PM	-3378	3391	-0,996	0,75
PM – CE	-599	3391	-0,177	0,99
SE - 70% PM	-1217	3389	-0,359	0,98
SE - CE	1562	3391	0,461	0,97
70% PM - CE	2779	3391	0,819	0,84
<i>Viabilidade dos grãos de pólen</i>				
PM – SE	0,545	1,58	0,346	0,99
PM - 70% PM	-1,700	1,58	-1,079	0,70
PM – CE	0,790	1,58	0,501	0,96
SE - 70% PM	-2,245	1,57	-1,426	0,49
SE - CE	0,245	1,58	0,155	0,10
70% PM - CE	2,49	1,58	1,581	0,39
<i>Diâmetro dos grãos de pólen</i>				
PM – SE	17,352	9,74	1,781	0,32
PM - 70% PM	15,167	9,74	1,556	0,43
PM – CE	15,596	9,74	1,600	0,41
SE - 70% PM	-2,185	9,74	-0,224	0,10
SE - CE	-1,756	9,74	-0,180	0,10
70% PM - CE	0,429	9,74	0,044	1,00

Tabela 12. Resultados do LMM com máxima verossimilhança restrita (REML) baseado no modelo “volume do ovário ~ tratamento + (1|planta) + (1|bloco)” e “número de óvulos ~ tratamento + (1|bloco)”. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas; EP= erro padrão. Os valores de P em negrito foram considerados significativos ($P < 0.05$).

Comparação	Estimativa	EP	Z	P valor
<i>Volume do ovário</i>				
PM – SE	-0,04516	0,0959	-0,471	0,97
PM - 70% PM	-0,04339	0,1155	-0,376	0,98
PM – CE	-0,21066	0,0999	-2,110	0,15
SE - 70% PM	0,00177	0,1065	0,017	1,00
SE - CE	-0,16550	0,0893	-1,854	0,25
70% PM - CE	-0,16726	0,1101	-1,519	0,43
Comparação	Estimativa	EP	T	P valor
<i>Nº de óvulos</i>				
PM – SE	92,1	40,9	2,251	0,12
PM - 70% PM	-43,3	49,1	-0,881	0,82
PM – CE	22,8	42,5	0,536	0,95
SE - 70% PM	-135,4	44,9	-3,012	0,02
SE - CE	-69,3	37,6	-1,845	0,26
70% PM - CE	66,1	46,7	1,413	0,49

CAPÍTULO 2 - Influência de alterações no regime hídrico sobre o néctar floral de *Cucurbita pepo* L.

CAPÍTULO 2 - Influência de alterações no regime hídrico sobre o néctar floral de *Cucurbita pepo* L.

RESUMO

O néctar é o recurso trófico que mais frequentemente media as interações planta-animal. Esta secreção é altamente energética, amplamente encontrada nas angiospermas e consumida por diversos grupos de polinizadores, sendo produzida a partir da hidrólise de grãos de amido contidos nos nectários. Alterações nos fatores abióticos podem afetar as características do néctar, influenciando a atração e comportamento dos polinizadores e, portanto, a reprodução de espécies vegetais dependentes dos mesmos, como é o caso de *Cucurbita pepo* L. O objetivo deste trabalho foi averiguar se mudanças no regime hídrico afetam as características do néctar e a abundância deste recurso trófico disponível às abelhas polinizadoras de *C. pepo*. Para isto, cultivamos em casa de vegetação 120 indivíduos divididos em quatro tratamentos simulando variações na pluviosidade previstas pelo IPCC (2021): [PM] condição controle, correspondente à pluviosidade média do mês de setembro dos últimos 40 anos na região de estudo; [CE] simulando eventos de chuva extrema; [70%PM] referente à redução de 30% na pluviosidade média local; e [SE] simulando extensos períodos de seca seguidos de chuvas torrenciais. Investigamos se os tratamentos aplicados influenciaram as características do néctar (volume, concentração e quantidade de açúcares totais do néctar por flor) e as dimensões do nectário. Avaliamos também o efeito dos tratamentos sobre a abundância de recurso em um cenário de cultivo, considerando não apenas as modificações nas características do néctar por flor, mas também o número de flores produzidas por planta. De maneira geral, todos os parâmetros analisados diminuíram com a intensificação da escassez hídrica. Além disso, verificamos uma potencialização da diminuição de oferta calórica aos visitantes florais por área de cultivo devido ao efeito aditivo de redução do número de flores produzidas por planta no tratamento de eventos de seca extrema [SE]. Este cenário, pode afetar o forrageamento das abelhas polinizadoras desta espécie, uma vez que a escassez hídrica leva à escassez de recurso trófico para as mesmas. Isso, por sua vez, pode impactar negativamente a polinização de *C. pepo*, afetando diretamente a produção de frutos, com potenciais impactos econômicos e ecológicos em cenários futuros.

Palavras-chave: abobrinha italiana, mudanças climáticas, néctar floral, polinização por abelhas, seca

INTRODUÇÃO

São esperadas para as próximas décadas alterações no regime de chuvas causadas por mudanças climáticas diversas (IPCC, 2021). Nestes cenários, as características dos recursos relacionadas à atração dos polinizadores podem sofrer importantes alterações (Caroll *et al.*, 2001; Gallagher & Campbell, 2017; Glenney *et al.*, 2018), sendo que, em casos extremos, podem até mesmo levar a rupturas nas interações planta-polinizador (Tylianakis *et al.*, 2008), tendo impacto ecológico, econômico e social. Néctar é o recurso trófico mais frequente nas angiospermas, sendo produzido em nectários e constituído principalmente de água e carboidratos (Pacini & Nicolson, 2007; Heil, 2011). Este é o atrativo floral primário que media a maior parte das interações planta-animal, sendo utilizado pelos polinizadores para nutrição dos adultos e, em alguns grupos, também de sua prole (Willmer, 2011).

O tamanho do nectário está associado com o volume e a concentração de sua secreção (Galetto & Bernardello, 2004; Galetto, 2009; Katzer *et al.*, 2019). Usualmente, os carboidratos que constituem o néctar são sintetizados nos órgãos vegetativos das plantas e armazenados no parênquima nectarífero em forma de grãos de amido, que, posteriormente, são hidrolisados formando o néctar (Nepi *et al.*, 1996a, b; Pacini *et al.*, 2003; Heil, 2011). Sendo assim, podemos esperar que maiores quantidades de grãos de amido armazenados no parênquima, resultem em maiores volumes de néctar (Liao *et al.*, 2021).

O néctar varia amplamente entre espécies e até mesmo entre flores de um mesmo indivíduo (Nicolson & Thornburg, 2007). Além disso, ele pode sofrer influência dos parâmetros ambientais, sendo que a disponibilidade de água pode regular sua taxa de secreção (Wyatt *et al.*, 1992). Alterações no volume e concentração do néctar podem resultar em modificações nas quantidades totais de açúcares disponíveis aos polinizadores, o que influencia a atração e o comportamento destes visitantes (Nicolson *et al.*, 2007; Willmer, 2011) e até mesmo a capacidade da espécie vegetal de sustentar seus polinizadores. Além disso, a diminuição no volume desta solução, causada por mudanças na disponibilidade de água, associada ao aumento na concentração, pode alterar a viscosidade do néctar (Willmer, 2011), afetando a coleta por visitantes de línguas longas (Baker & Baker, 1983; Nicolson *et al.*, 2007).

Adicionalmente, mudanças na disponibilidade de água podem influenciar negativamente não apenas as características do néctar, mas, também, diversas características gerais da planta, dentre elas a produção de flores (Galen, 1999, Capítulo 1). Uma diminuição no anúncio floral causada pela redução ou até mesmo excesso de pluviosidade representa também uma menor disponibilidade calórica aos visitantes florais, podendo prejudicar a atração destes animais (Muñoz *et al.*, 2005; García & Chacoff, 2007) e causar redução na polinização (Galen, 2005). Por outro lado, em cenários com aumento não excessivo na quantidade de água disponível podemos ter uma maior produção de flores, podendo aumentar, também, a disponibilidade calórica aos polinizadores.

Neste capítulo, utilizamos *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) como espécie modelo para avaliar se mudanças no regime hídrico, simulando alterações de pluviosidade previstas pelo IPCC (AR-6, 2021), afetam as características do néctar. Adicionalmente, investigamos se alterações nas características do néctar são acompanhadas por mudanças no tamanho dos nectários florais, visando determinar se alterações estruturais estão envolvidas nas respostas dessa espécie vegetal às mudanças climáticas relacionadas ao estresse hídrico. Complementarmente, investigamos se os tratamentos de alteração de pluviosidade afetam a oferta calórica por planta, considerando as possíveis modificações na oferta calórica por flor em associação à alteração na quantidade de flores pistiladas e estaminadas produzidas por planta, relatada no Capítulo 1. Além disso, extrapolamos os dados para um cenário de cultivo, visando dimensionar os potenciais impactos das alterações de pluviosidade previstas pelo IPCC sobre a abundância de recurso trófico disponível às abelhas polinizadoras dessa importante cultura agrícola.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécie vegetal

Como visto anteriormente, as flores de *C. pepo* são unissexuais, o que confere diferenças morfológicas entre flores pistiladas e estaminadas, inclusive em seus nectários (Nepi & Pacini, 1993; Frigero *et al.*, 2022). Em flores pistiladas o nectário se encontra ao redor dos estiletos e tem formato anelar, formando um canal, onde o néctar se acumula e fica exposto (Nepi & Pacini, 1993; Baptista, 2016). Por sua vez, em flores

estaminadas, abaixo da base concrecida dos filetes forma-se uma câmara, onde se acumula o néctar secretado pelo nectário, localizado acima do receptáculo floral (Nepi & Pacini, 1993; Baptista, 2016). O néctar ali acumulado pode ser acessado pelos polinizadores através de poros presentes na base concrecida dos filetes (Solhaug *et al.*, 2019).

Em ambos os sexos, a abertura das flores de *C. pepo* se inicia entre 0500 h e 0600 h e a senescência ocorre durante as horas mais quentes, no mesmo dia, entre 1130 h e 1230 h, podendo variar em função das condições meteorológicas (Nepi & Pacini, 1993). Quando comparadas às flores estaminadas, flores pistiladas tem maiores volumes de néctar (Nepi *et al.*, 2001), o que pode estar ligado a uma maior superfície secretora e uma alta densidade de estômatos em seus nectários (Nepi *et al.*, 1996a). Devido a essas diferenças entre flores pistiladas e estaminadas, iremos comparar as respostas das plantas aos tratamentos de variação no regime hídrico levando em conta flores de cada sexo separadamente.

Caracterização do néctar floral

Avaliamos o efeito da variação no regime hídrico sobre a produção de néctar floral. Para isso, comparamos os parâmetros do néctar, volume, concentração e miligramas totais de açúcar por flor, entre os tratamentos de variação de pluviosidade e o controle. Medimos o volume e a concentração do néctar de flores estaminadas e pistiladas (para detalhes sobre o tamanho amostral, ver Tabela 1), às 0800h, próximo do horário de pico de sua produção (Nepi *et al.*, 2001) (Figura 1A-C). Usamos seringas graduadas e refratômetro manual portátil (0-32% grau brix) para medir o volume e a concentração, respectivamente. Posteriormente, utilizamos estes dados para consulta na tabela elaborada por Galetto & Bernardello (2005), para calcular a quantidade total de açúcares por flor (mgS).

Dimensões do nectário floral

Avaliamos o efeito dos tratamentos sobre o tamanho do nectário e se essa variável está associada com os parâmetros do néctar. Essas variáveis, conjuntamente, constituem um indicador robusto sobre potenciais variações na oferta calórica,

representada pelo néctar floral, frente às previsões do IPCC de mudanças na pluviosidade. Para isso, coletamos flores pistiladas e estaminadas (para detalhes sobre o tamanho amostral, ver Tabela 2) e realizamos cortes longitudinais nas porções medianas dos nectários; os fotografamos e, utilizando o software Image J, mensuramos a espessura e diâmetro dos mesmos (Figura 1B-D).

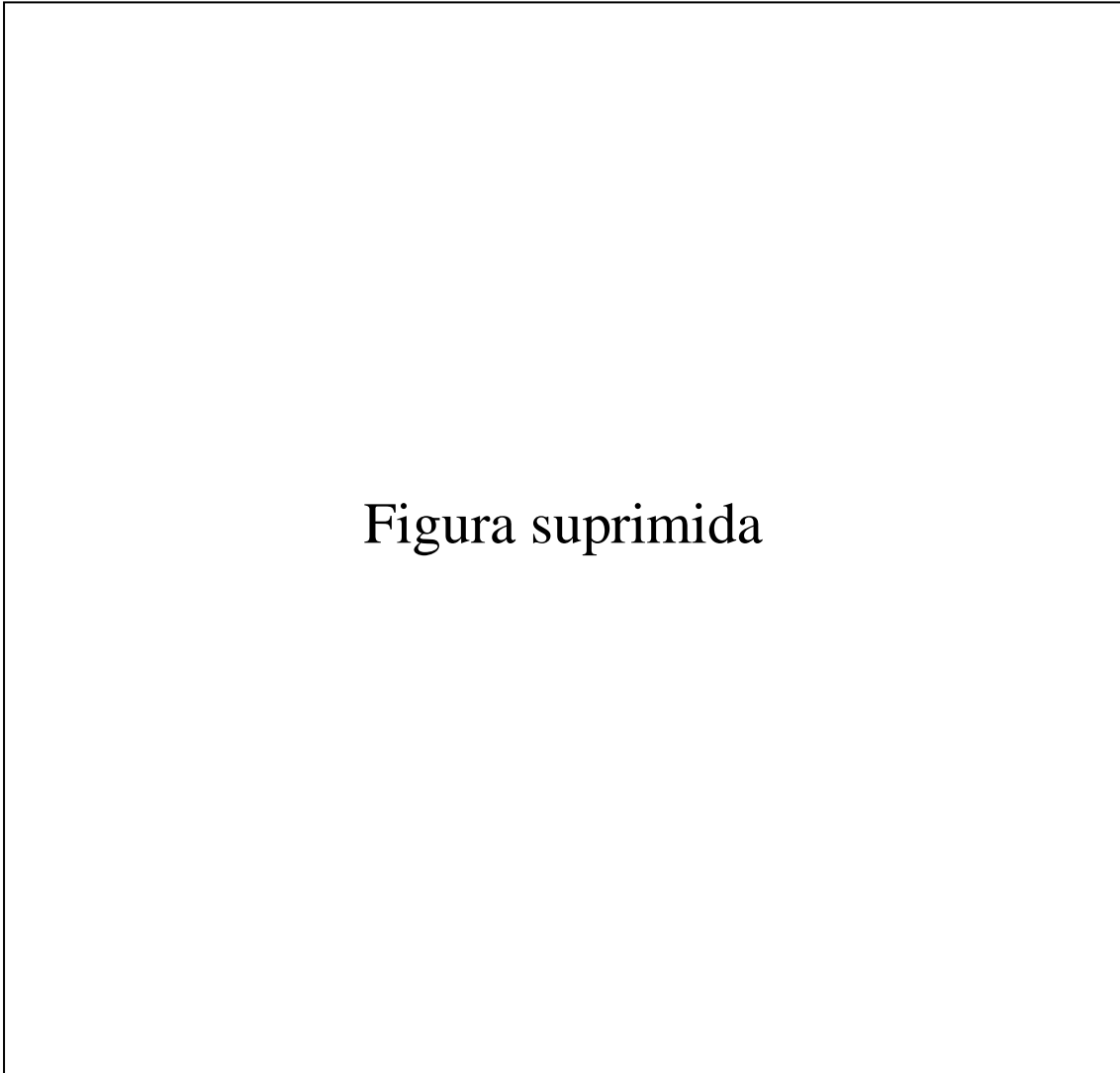


Figura 1. Flores de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). (A) Visão frontal de flores estaminadas, mostrando as anteras (a). (B) Posição do nectário (n) em flores estaminadas, onde o néctar se acumula sobre um nectário côncavo abaixo de seus filetes fundidos (f), podendo ser acessado por poros na base dos filetes. A linha indica o local em que foi tomada a medida do diâmetro do nectário. (C) Visão frontal de flores pistiladas, mostrando o estigma (es) e parte do nectário (n). (D) Posição do nectário (n) com formato anelar ao redor dos estiletos (e), em flores pistiladas. A linha indica o local em que foi tomada a medida do diâmetro do nectário. Escala: (A, C)= 2 cm; (B, D)= 0,5 cm.

Estimativa do total calórico por área de cultivo

Calculamos a oferta calórica por planta, levando em conta a produção total de flores pistiladas e estaminadas por indivíduo ao longo da estação reprodutiva (relatada no Capítulo 1). Para estimar a oferta calórica por planta, multiplicamos os miligramas totais de açúcares por flor (pistiladas e estaminadas, separadamente) pelo número total de flores de cada sexo produzidas na planta. Com o intuito de averiguar mudanças na oferta calórica em cenários de produção agrícola, extrapolamos nossos resultados para a escala de 1 hectare, usando como base as diretrizes de espaçamento entre plantas de *C. pepo* apresentadas no guia de plantio da Emater – MG (Silveira & Carvalho, 2022). A partir dessas diretrizes, calculamos que em 1 hectare de cultivo há cerca de 6.600 plantas. Fizemos então uma simulação de um cenário com 6.600 plantas em cada tratamento, utilizando *bootstrap* com reposição dos dados de oferta calórica por planta em cada tratamento. Esse procedimento permitiu obter uma estimativa de como os possíveis futuros cenários de variação de pluviosidade devido às mudanças climáticas poderão afetar a disponibilidade de recursos tróficos para polinizadores dessa cultura em um cenário de produção agrícola em maior escala.

Análises estatísticas

Aplicamos modelos lineares generalizados mistos (GLMMs) para averiguar se o volume (Tabela 1 do Apêndice), concentração (Tabela 2 do Apêndice) e os miligramas de açúcar do néctar (Tabela 3 do Apêndice) foram afetados pelos tratamentos de variação no regime hídrico e se essa resposta variou em função do sexo das flores. Adicionalmente, verificamos se o diâmetro e a espessura do nectário estavam correlacionados utilizando o teste de correlação de Kendall (Figura 1 do Apêndice). Como houve correlação entre as duas variáveis, utilizamos apenas os dados do diâmetro no GLMM para avaliar o efeito dos tratamentos sobre o tamanho do nectário (Tabela 4 do Apêndice). Usamos GLMMs com distribuição de erro gama para os dados de volume e miligramas de açúcar do néctar; e com distribuição de erro Gaussiana para os dados de concentração do néctar e diâmetro do nectário. Consideramos tratamento e sexo da flor como variáveis fixas e plantas e blocos como variáveis aleatórias.

Adicionalmente, verificamos se a quantidade total de açúcares (mgS) produzida por flor estava correlacionada ao tamanho do nectário, utilizando testes de correlação de Pearson e de Kendall para flores pistiladas e estaminadas, respectivamente.

Adicionalmente, usamos modelo linear generalizado misto (GLMM) com distribuição de erros gama para avaliar se a oferta calórica por planta foi afetada pelos tratamentos de variação no regime hídrico. Consideramos tratamento como variável fixa e plantas e blocos como variáveis aleatórias.

Todas as análises estatísticas e representações gráficas foram realizadas no ambiente computacional R (R Core Team, 2021) com os seguintes pacotes adicionais: car (Fox & Weisberg, 2019), emmeans (Lenth, 2020), fitdistrplus (Delignette-Muller & Dutang, 2015), ggplot2 (Wickham, 2016), glmmADMB (Fournier *et al.*, 2012), actuar (Dutang *et al.*, 2008), lattice (Sarkar, 2008), lme4 (Bates *et al.*, 2015), MASS (Venables & Ripley, 2002), R2admb (Bolker *et al.*, 2020) e lmerTest (Kuznetsova *et al.*, 2017).

RESULTADOS

Caracterização do néctar floral

O tratamento de seca extrema [SE], quando comparado ao controle [PM], levou a redução no volume de néctar somente em flores estaminadas ($z = -6,758$; $p < 0,05$; Tabela 1; Figura 2A-B; ver estatística detalhada na Tabela 5 do Apêndice).

O tratamento de seca extrema [SE], quando comparado ao controle [PM], levou a uma redução da concentração do néctar de flores pistiladas ($t = -3,616$; $p < 0,05$) e estaminadas ($t = -9,906$; $p < 0,05$) (Tabela 1; Figura 2C-D; ver estatística detalhada na Tabela 6 do Apêndice).

Quanto à quantidade total de açúcares por flor (mgS), o tratamento de seca extrema [SE] levou à redução em flores pistiladas e estaminadas ($z = 0,154$; $p < 0,05$), quando comparadas às flores do controle [PM] (Tabela 1; Figura 2E-F; ver estatística detalhada na Tabela 7 do Apêndice). Além disso, quando comparados ao controle [PM], o tratamento [CE] levou ao aumento nos mgS em flores de ambos os sexos ($z = 0,134$; $p < 0,05$) (Tabela 1; Figura 2E-F; ver estatística detalhada na Tabela 7 do Apêndice).

Tabela 1. Volume, concentração e quantidade de açúcares totais do néctar em flores estaminadas e pistiladas de *Cucurbita pepo* L. Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva

extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Valores apresentados como média e desvio padrão.

Tratamento	PM	CE	70% PM	SE
<i>Flores pistiladas</i>				
Nº plantas (Nº flores)	21(21)	28(28)	19(19)	4(4)
Volume do néctar/flor (μ l)	60,1 \pm 22,3	90,5 \pm 28,0	62,3 \pm 22,0	10,5 \pm 9,6
Concentração do néctar (%)	34,9 \pm 2,5	34,8 \pm 3,1	34,4 \pm 2,3	23,2 \pm 5,5
Quantidade de açúcares totais (mgS/flor)	24,5 \pm 9,9	36,3 \pm 11,1	25,1 \pm 9,9	2,8 \pm 2,8
<i>Flores estaminadas</i>				
Nº plantas (Nº flores)	26(26)	27(27)	26(26)	25(25)
Volume do néctar/flor (μ l)	20,8 \pm 16,9	30,1 \pm 16,7	13,1 \pm 10,8	1,9 \pm 2,4
Concentração do néctar (%)	31,6 \pm 5,8	34,4 \pm 4,7	30,0 \pm 6,0	15,9 \pm 5,1
Quantidade de açúcares totais (mgS/flor)	8,2 \pm 7,3	12,9 \pm 7,7	4,9 \pm 4,8	0,3 \pm 0,5

Dimensões do nectário floral

O tratamento de seca extrema [SE] levou à redução no tamanho do nectário de flores pistiladas ($z= 3,209$; $p < 0,05$) e estaminadas ($z= 6,719$; $p < 0,05$) em comparação ao controle [PM] (Tabela 2; Figura 3A-B; ver estatística detalhada na Tabela 8 do Apêndice). Enquanto o tratamento de chuva extrema [CE] levou ao aumento dos nectários ($z= 2,785$; $p < 0,05$), o tratamento [70% PM] levou à redução dos nectários em flores estaminadas ($z= 2,70$; $p < 0,05$) quando comparados ao controle [PM] (Tabela 2; Figura 3B; ver estatística detalhada na Tabela 8 do Apêndice). Apesar das mudanças no tamanho do nectário em função dos tratamentos terem seguido o mesmo padrão observado de mudanças nos miligramas de açúcar, a correlação entre essas duas variáveis foi fraca, tanto para flores pistiladas quanto estaminadas (Figura 4A-B).

Figura suprimida

Figura 2. Características do néctar floral de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). A) Volume (microlitros), C) concentração (%) e E) açúcares totais (mgS) do néctar coletado de flores pistiladas (♀). B) Volume (microlitros), D) concentração (%) e F) açúcares totais (mgS) do néctar coletado de flores estaminadas (♂). Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70%

PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Os gráficos mostram a mediana (linha horizontal atravessando a caixa), o 25° e 75° percentil (limites inferior e superior das caixas), as caudas inferiores e superiores, que correspondem aos menores e maiores dados distantes da caixa a menos do que 1.5 vez da distância interquartil, e os “outliers”.

Tabela 2. Diâmetro e espessura dos nectários de flores pistiladas e estaminadas de *Cucurbita pepo* L. Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Valores apresentados como média e desvio padrão.

Tratamento	PM	CE	70% PM	SE
<i>Flores pistiladas</i>				
Nº plantas (Nº flores)	22(22)	24(24)	15(15)	5(5)
Diâmetro do nectário (mm)	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1
Espessura do nectário (mm)	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1
<i>Flores estaminadas</i>				
Nº plantas (Nº flores)	27(27)	26(26)	24(24)	27(27)
Diâmetro do nectário (mm)	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1
Espessura do nectário (mm)	0,1 ± 0,1	0,18 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,08 ± 0,1

Figura suprimida

Figura 3. Diâmetro do nectário de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). A) Em flores pistiladas (♀). B) Em flores estaminadas (♂). Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Os gráficos mostram a mediana (linha horizontal atravessando a caixa), o 25° e 75° percentil (limites inferior e superior das caixas), as caudas inferiores e superiores, que correspondem aos menores e maiores dados distantes da caixa a menos do que 1.5 vez da distância interquartil, e os “outliers”.

Figura suprimida

Figura 4. Miligramas totais de açúcar por flor em função do diâmetro do nectário. A) pistiladas (♀) e B) estaminadas (♂). Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas.

Estimativa do total calórico por área

A quantidade total de açúcares (mgS) por planta foi menor no tratamento [SE] do que no controle [PM] ($z = -16,612$; $p < 0,05$; Tabela 3; Figura 5A-B; ver estatística detalhada na Tabela 9 do Apêndice).

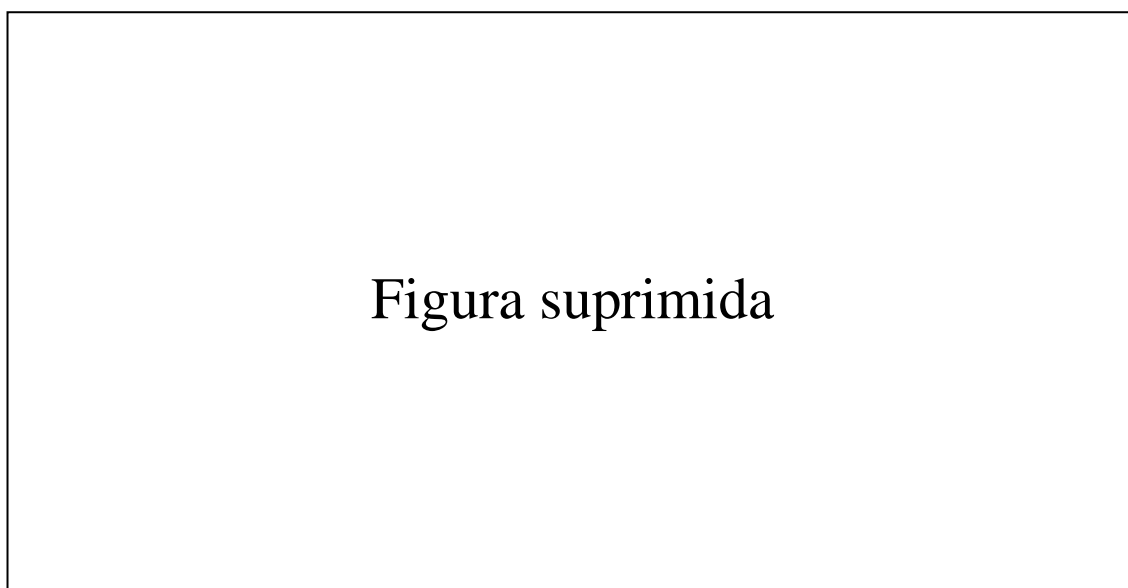


Figura 5. Oferta calórica total por planta de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). (A) Quantidade total de flores abertas por indivíduo durante a floração. (B) Total de açúcares (mgS) produzido durante a floração. Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas

intensas. Os gráficos mostram a mediana (linha horizontal atravessando a caixa), o 25º e 75º percentil (limites inferior e superior das caixas), as caudas inferiores e superiores, que correspondem aos menores e maiores dados distantes da caixa a menos do que 1.5 vez da distância interquartil, e os “outliers”.

Estes resultados mostram, então, que uma redução no regime hídrico acarreta menores quantidades de açúcares totais nas flores, assim como menores quantidades de flores abertas durante a floração (Capítulo 1). Estes dois parâmetros em conjunto, estariam potencializando a redução da oferta calórica por hectare cultivável de *C. pepo*, passando de uma produção de 1,32 tonelada de açúcares por hectare no controle [PM] para cerca de 70 kg no tratamento de seca extrema [SE] (Tabela 4).

Tabela 4. Quantidade de açúcares totais produzidos por flor, por planta e por hectare (n= 6600 plantas). Os quatro tratamentos são referentes a variações no regime hídrico segundo previsões do IPCC (2021): PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu (Controle); CE= 278 ml diariamente, correspondendo à eventos de chuva extrema; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas. Valores apresentados como média e desvio padrão.

Tratamento	MgS/flor	MgS/planta	ΣmgS das plantas em 1 hectare
PM	200,7 ± 124,0	4710,9 ± 141,3	1.325.175
CE	349,2 ± 107,0	9538,9 ± 150,1	2.304.921
70% PM	130,7 ± 64,3	2765,1 ± 149,7	862.761
SE	10,8 ± 4,8	75,8 ± 148,7	71.377

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os tratamentos de variação no regime hídrico aos quais submetemos os indivíduos de *C. pepo* afetaram a oferta calórica disponível às abelhas polinizadoras, principalmente no tratamento que simula a ocorrência de seca extrema.

O tratamento de seca extrema [SE] foi o que mais afetou as características do néctar de *C. pepo*, reduzindo o volume nas flores estaminadas e a concentração e os

miligramas de açúcar em flores de ambos os sexos. Ainda, a redução de 30% na pluviosidade média do mês de setembro [70% PM] também levou a uma diminuição dos miligramas totais de açúcar em flores estaminadas; inversamente, o tratamento de pluviosidade abundante [CE] levou ao aumento dos miligramas totais de açúcar nestas flores. Esses resultados indicam que a produção de néctar nas flores estaminadas foi mais comprometida pela variação no regime hídrico do que a das flores pistiladas, que responderam apenas em um cenário de extrema escassez hídrica.

Neste contexto de redução acentuada do regime hídrico, o mecanismo de fechamento dos estômatos para diminuição da evapotranspiração pode reduzir a absorção de CO² e conseqüentemente as taxas fotossintéticas. Indivíduos estressados antes de seu florescimento tendem a se adaptar mais rapidamente às suas novas condições ambientais (Kuppler & Kotowska, 2021). No entanto, as reduções de fotoassimilados podem limitar ainda mais os recursos da planta, já que menores quantidades de glicose serão produzidas pelos indivíduos (Blumwald & Mittler, 2017).

Esperávamos que o volume de néctar fosse mais afetado por mudanças no regime hídrico pois fatores ambientais são importantes reguladores da secreção desta solução (Wyatt *et al.*, 1992, Carroll *et al.*, 2001). Contudo, este fator variou apenas em situações de eventos extremos de seca. Reduções mais brandas no regime de chuvas não causaram mudanças no volume do néctar produzido, bem como o aumento de pluviosidade. Os efeitos das condições de estresse nas plantas podem variar de acordo com a intensidade do estresse (Kuppler & Kotowska, 2021) e com o período de vida do indivíduo, sendo pior durante a sua floração (Chiarello & Gulmon, 1991; Passioura, 1996; Nam *et al.*, 2001). Contudo, plantas de ciclo curto tendem a destinar seus recursos em condições adversas, a fim de priorizar sua reprodução e deixar descendentes (Lauder *et al.*, 2019).

Já a concentração do néctar diminuiu no tratamento [SE], em ambos os sexos. Seria esperado que este parâmetro seja mais estável dentro das características desta secreção (Carroll *et al.*, 2001), pois está relacionado com a manutenção de visitas florais por parte de polinizadores com limitações específicas com relação à viscosidade do néctar (Willmer, 2011). Um néctar muito viscoso, por exemplo, não poderia ser coletado por visitantes de línguas longas. Além disso, manter concentrações similares em flores de ambos os sexos, independentemente de mudanças no regime hídrico, pode ser um meio de assegurar a constância de visitas (Stahl *et al.*, 2012).

No tratamento de seca extrema [SE], a média das concentrações de néctar encontrada tanto em flores pistiladas quanto estaminadas (Tabela 1), fica abaixo da faixa de 30% - 60%, preferida por abelhas (Willmer, 2011), exploradoras do néctar de *C. pepo*. Um néctar mais diluído aumenta a quantidade de água a ser evaporada pelas abelhas durante o processo de formação do mel (Nicolson & Human, 2008), o que acarreta maior investimento de energia por parte dos polinizadores para obter um aporte calórico semelhante.

Esperávamos que as dimensões dos nectários estivessem diretamente associadas com a quantidade de néctar produzido, pois maiores quantidades de grãos de amido armazenados no parênquima tendem a resultar em maiores volumes de néctar secretados, como demonstrado em *Ipomoea lacunosa* e *I. cordatotriloba* (Convolvulaceae) (Liao *et al.*, 2021). Vimos que flores pistiladas tem nectários maiores do que as estaminadas, evidenciando diferenças entre o sexo das flores, sendo que o maior tamanho destas estruturas em flores pistiladas de *C. pepo* (Dmitruk & Weryszko-Chmielewska, 2013) está associado à maiores volumes de néctar produzido (Nepi *et al.*, 2001; Frigero *et al.*, 2022).

Em flores estaminadas, o volume do néctar produzido em indivíduos submetidos ao tratamento de seca extrema [SE] foi inferior ao de todos os outros grupos, assim como o tamanho do nectário. Essa diminuição no tamanho de sua estrutura poderia ser responsável pela limitação na produção do néctar, corroborando trabalhos que relacionam o tamanho dos nectários com a quantidade de néctar neles produzida (Nepi *et al.*, 2001; Dmitruk & Weryszko-Chmielewska, 2013). Apesar destas indicações de uma associação entre o tamanho do nectário e as características de sua secreção, nossos resultados não mostraram uma correlação entre essas variáveis. No caso de *C. pepo*, podemos conjecturar que a produção do néctar tem grande influência do fator genético da planta mãe, corroborando estudos que apontam que o tamanho do nectário não é o suficiente para explicar a variação das características desta secreção (Nepi & Stpiczynska, 2008; Liao *et al.*, 2021).

Ainda, no tratamento de seca extrema [SE] além de 43% das plantas não produziram flores pistiladas, outros 40% produziram apenas uma flor durante toda a floração (Capítulo 1), que apresentou uma quantidade significativamente menor de miligramas de açúcar. Este cenário resultou em uma diferença marcante nos miligramas totais por planta entre os tratamentos [SE] e [PM]. Isso poderia ser compensado por

uma produção maior de flores masculinas, entretanto nossos resultados não corroboraram essa expectativa, indicando também uma redução no número de flores masculinas no tratamento de seca extrema [SE].

Além de podermos associar uma diminuição na quantidade de visitas às flores de *C. pepo* por conta de um menor anúncio floral (Muñoz *et al.*, 2005; García & Chacoff, 2007), menores quantidades de flores abertas durante a floração, juntamente com os dados obtidos de redução na quantidade total de açúcares presentes no néctar, nos demonstraram modificações substanciais na oferta calórica disponível às abelhas do gênero *Melipona*, um dos principais grupos de abelhas polinizadoras dessa espécie (Serra & Campos, 2010). Essas abelhas nativas do Brasil são sociais e coletam néctar e pólen como recursos para manter seus indivíduos adultos e sua prole, possuindo uma alta demanda energética (Willmer, 2011). Uma diminuição nos miligramas totais de açúcar presentes no néctar está intimamente ligada a uma redução na totalidade de calorias da secreção, sendo que suas baixas quantidades podem não suprir as necessidades energéticas dos visitantes florais (Phillips *et al.*, 2018) ou não compensar o deslocamento do polinizador entre plantas, afetando a troca de gametas.

Esses efeitos podem se propagar através das redes tróficas (Stiles, 1992, Wilson Rankin *et al.*, 2020), ameaçando a manutenção das populações de animais que dependem diretamente de recursos florais e, conseqüentemente, de seus predadores. Em cenários de redução do regime hídrico, a diminuição na disponibilidade calórica em ambientes de cultivo forrageados por essas abelhas pode levar a mudanças no seu padrão alimentar e na manutenção de suas populações (Biesmeijer *et al.*, 2006; Wray *et al.*, 2014; Dicks *et al.*, 2015). Enfrentamos hoje declínios acentuados destes animais, causados por alterações nos recursos por eles coletados e modificações em seus habitats e alimentação, dentre outros fatores (IPBES, 2016).

No Brasil, as abelhas são as maiores responsáveis pela polinização de cultivos usados para consumo humano (Giannini *et al.*, 2015). Portanto, o agravamento do desaparecimento destes animais pode ser catastrófico para a produção de alimentos no país. Estima-se que mudanças climáticas causarão um declínio de polinizadores envolvidos nas produções agrícolas em 90% dos municípios (Giannini *et al.*, 2017). A perda econômica desse cenário pode ser de R\$ 43 bilhões, valor referente a receita ligada a cultivos dependentes de polinização por animais no Brasil em 2018 (Wolowski

et al., 2019). Para a abobrinha italiana, este cenário afetaria sua produção de 158.518 toneladas e sua receita de mais de R\$ 133.284 milhões de reais (IBGE, 2017).

De maneira geral, flores estaminadas sofreram maiores alterações com as mudanças no regime hídrico. Já em flores pistiladas, vimos respostas apenas em situações extremas, como as simuladas pelo tratamento [SE]. Em condições de redução do regime hídrico, a junção das mudanças nos miligramas totais de açúcares, encontradas nesse capítulo, e a diminuição na quantidade de flores produzidas durante a floração (Capítulo 1) evidenciam uma potencial redução na disponibilidade calórica aos polinizadores de *C. pepo* por hectare cultivável. Neste cenário, as taxas de polinização podem ser comprometidas como consequência dessa mudança na atração dos polinizadores dessa espécie. A não manutenção do forrageamento desses animais neste cenário de escassez hídrica pode levar a diminuição da biodiversidade, afetando a produção de alimento e causar declínios ainda mais acentuados dos polinizadores na região. Seria importante aprofundarmos nossos estudos para averiguar se, de fato, estas mudanças causam alterações no comportamento dos polinizadores de *C. pepo*, investigando possíveis problemas futuros adicionais relacionados às mudanças climáticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baker, H.G. & Baker, I. (1983). Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. Em: Jones, C.E., Handbook of Experimental Pollination Biology. Van Nostrand-Reinhold, New York
- Baptista, C.F. (2016). Polinização de *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) por *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em cultivo protegido. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. Journal of Statistical Software, 67(1), 1-48.
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Schaffers, A.P., Potts, S.G., Kleukers, R., Thomas, C.D., Settele, J. & Kunin, W.E. (2006). Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. Science, 313(5785), 351-4.
- Blumwald, E. & Mittler, R. Estresse abiótico. 2017. Em: Taiz, L. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Porto Alegre: Editora Artmed. 6, 731-759.

- Bolker, B., Skaug, H. & Laake, J. (2020). R2admb: 'ADMB' to R Interface Functions. R package version 0.7.16.2.
- Carroll, A.B., Pallardy, S.G. & Galen, C. (2001). Drought stress, plant water status, and floral trait expression in fireweed, *Epilobium angustifolium* (Onagraceae). *American Journal of Botany*, 88(3), 438-446.
- Chiarello, N.R. & Gulmon, S.L. (1991) Stress effects on plant reproduction. Em: Mooney, H.A., Winner, E.W. & Pell, E.J. Responses of Plants to Multiple Stresses. Academic Press, New York, 162–188.
- Delignette-Muller, M.L. & Dutang, C. (2015). Fitdistrplus: An R package for fitting distributions. *Journal of Statistical Software*, 64, 1–34.
- Dicks, L.V., Baude, M., Roberts, S.P., Phillips J., Green, M. & Carvell, C. (2015). How much flower-rich habitat is enough for wild pollinators? Answering a key policy question with incomplete knowledge. *Ecology Entomology*, 40, 22–35.
- Dmitruk, M. & Weryszko-Chmielewska, E. (2013). The morphology and ultrastructure of the nectaries of marrow (*Cucurbita pepo* L. convar. giromontiina). *Acta Agrobotanica*, 66(3), 11–22.
- Dutang, C., Goulet, V. & Pigeon, M. (2008). actuar: An R Package for Actuarial Science. *Journal of Statistical Software*, 25(7), 1-37.
- Fournier, D.A., Skaug, H.J., Ancheta, J., Ianelli, J., Magnusson, A., Maunder, M., Nielsen, A. & Sibert, J. (2012). AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models. *Optimization Methods and Software*, 27, 233-249.
- Fox, J. & Weisberg, S. (2019). An {R} Companion to Applied Regression, Third Edition. Thousand Oaks CA: Sage.
- Frigero, M.L.P., Balduino, H.K., Leite, K.M., Tunes, P., Boaro, C.S.F., Machado, S.R. & Guimarães, E. (2022). Nectary size and nectar production in pistillate and staminate flowers of *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, 14(1), 23.
- Galen, C. (1999). Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower size and form within natural plant populations. *Bioscience*, 49, 631–640.
- Galen C. (2005). It never rains but then it pours: the diverse effects of water on flower integrity and function. Em: Reproductive allocation in plants. Academic Press, 77-95.

- Galetto L. & Bernardello, G. (2004). Floral nectaries, nectar production dynamics and chemical composition in six *Ipomoea* species (Convolvulaceae) in relation to pollinators. *Annals of Botany*, 94, 269-280.
- Galetto, L. & Bernardello, G. (2005). Nectar. Em: Dafni, A., Kevan, P. & Husband, B. C. *Practical Pollination Biology*, Enviroquest, Cambridge, Ontario, Canada, 261-313.
- Galetto, L. (2009). Nectary and Nectar Features: Occurrence, Significance, and Trends in Bignoniaceae. *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, 1(2), 121-132.
- Gallagher, M.K. & Campbell, D.R. (2017). Shifts in water availability mediate plant–pollinator interactions. *New Phytologist*, 215(2), 792-802.
- García, D. & Chacoff, N.P. (2007). Scale-dependent effects of habitat fragmentation on hawthorn pollination, frugivory, and seed predation. *Conservation Biology*, 21(2), 400-11.
- Giannini, T.C., Cordeiro, G.D., Freitas, B.M., Saraiva, A.M. & Imperatriz-Fonseca, V.L. (2015). The Dependence of Crops for Pollinators and the Economic Value of Pollination in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, 108(3), 849-57.
- Giannini, T.C., Costa, W.F., Cordeiro, G.D., Imperatriz-Fonseca, V.L., Saraiva, A.M., Biesmeijer, J. & Garibaldi, L.J. (2017). Projected climate change threatens pollinators and crop production in Brazil. *PLOS ONE*, 12(8), e0182274.
- Glenny, W. R., Runyon, J. B. & Burkle, L. (2018). Drought and increased CO₂ alter floral visual and olfactory traits with context-dependent effects on pollinator visitation. *New Phytologist*, 220(3), 785-798
- Heil, M. (2011). Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends Plant Science*, 16, 191-200.
- IBGE – Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2017. Valor da produção, Quantidade produzida, Estabelecimentos, Maior produtor. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/abobrinha/br>>. Acesso em: 17/06/2022.
- IPBES. (2016). The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production. Potts, S.G., Imperatriz-Fonseca, V.L. & Ngo, H.T. (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages.

- IPCC, 2021: Summary for Policymakers. Em: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pirani, A., Connors, S.L., Péan, C., Berger, S., Caud, N., Chen, Y., Goldfarb, L., Gomis, M.I., Huang, M., Leitzell, K., Lonnoy, E., Matthews, J.B.R., Maycock, T.K., Waterfield, T., Yelekçi, O., Yu, R., & Zhou, B. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 3–32.
- Katzer, A.M., Wessinger, C.A. & Hileman, L.C. (2019). Nectary size is a pollination syndrome trait in *Penstemon*. *New Phytologist*, 223(1), 377-384.
- Kuppler, J. & Kotowska, M.M. (2021). A meta-analysis of responses in floral traits and flower–visitor interactions to water deficit. *Global Change Biology*.
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P.B. & Christensen, R.H.B. (2017). lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software*, 82(13), 1-26.
- Lauder, J.D., Moran, E.V., & Hart, S.C. (2019). Fight or flight? Potential tradeoffs between drought defense and reproduction in conifers. *Tree physiology*, 39(7), 1071-1085.
- Lenth, R.V. (2022). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.7.2.
- Liao, I.T., Rifkin, J.L., Cao, G. & Rausher, M.D. (2021). Modularity and selection of nectar traits in the evolution of the selfing syndrome in *Ipomoea lacunosa* (Convolvulaceae).
- Muñoz, A., Neghme, C.L., Cavieres, L. & Kalin, M. (2005). Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia*, 143, 126-35.
- Nam, N.H., Chauhan, Y.S. & Johansen, C. (2001). Effect of timing of drought stress on growth and grain yield of extra-short duration pigeon pea lines. *The Journal of Agricultural Science*, 136, 179–189.
- Nepi, M. & Pacini, E. (1993). Pollination, pollen viability and pistil receptivity in *Cucurbita pepo*. *Annals of Botany*, 72(6), 527-536
- Nepi, M., Pacini, E. & Willemse, M. T. T. (1996a). Nectar biology of *Cucurbita pepo*: ecophysiological aspects. *Acta Botanica Neerlandica*, 45, 41-54.
- Nepi, M., Ciampolini, F. & Pacini, E. (1996b). Development and ultrastructure of *Cucurbita pepo* nectaries of male flowers. *Annals of Botany*, 78, 95-104.

- Nepi, M., Guarnieri, M. & Pacini, E. (2001). Nectar secretion, reabsorption and sugar composition in male and female flowers of *Cucurbita pepo*. *International Journal of Plant Sciences*, 162, 353–358.
- Nepi, M. & Stpiczynska, M. (2008). Do plants dynamically regulate nectar features through sugar sensing? *Plant Signal Behavior*, 3(10), 874-6.
- Nicolson, S.W., Nepi, M. & Pacini, E. (2007). *Nectaries and Nectar*. Netherlands, Springer, 408.
- Nicolson, S.W. & Thornburg, R.W. (2007). Nectar chemistry, 215 – 264. Em: Nicolson, S.W., Nepi, M. & Pacini, E. *Nectaries and Nectar*. Netherlands, Springer, 408.
- Nicolson, S.W. & Human, H. (2008). Bees get a head start on honey production. *Biology Letters*. 4, 299-301.
- Pacini, E., Nepi, M. & Vesprini, J.L. (2003). Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution*, 238, 7-21.
- Pacini, E. & Nicolson, S.W. (2007). Introduction, 1-18. Em Nicolson, S. W., Nepi, M. & Pacini, E. *Nectaries and Nectar*. Netherlands, Springer, 408.
- Passioura J.B. (1996). Drought and drought tolerance. *Plant Growth Reg*, 20, 79–83.
- Phillips, B.B., Shaw, R.F., Holland, M.J., Fry, E.L., Bardgett, R.D., Bullock, J.M. & Osborne, J.L. (2018). Drought reduces floral resources for pollinators. *Global Change Biology*, 24, 3226–3235.
- R Core Team (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Sarkar, D. (2008). *Lattice: Multivariate Data Visualization with R*. Springer, New York.
- Serra, B.D. & Campos, L.A.D.O. (2010). Polinização entomófila de abobrinha, *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). *Neotropical Entomology*, 39, 153-159.
- Silveira, G.S.R. & Carvalho, S.P. (2022) Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais - EMATER-MG. Cultura da abobrinha-italiana. Disponível em: <<https://www.emater.mg.gov.br/doc/intranet/upload/LivrariaVirtual/cultura%20da%20abobrinha-italiana.pdf>>. Acesso: 02/08/2022
- Solhaug, E.M., Roy, R., Chatt, E.C., Klinkenberg, P.M., Mohd-Fadzil, N.A., Hampton, M., Nikolau, B.J., Carter, C.J. (2019). An integrated transcriptomics and metabolomics analysis of the *Cucurbita pepo* nectary implicates key modules of

- primary metabolism involved in nectar synthesis and secretion. *Plant Direct*, 3 (2), 1–13.
- Stahl, J.M., Nepi, M., Galetto, L., Guimarães, E. & Machado, S.R. (2012). Functional aspects of floral nectar secretion of *Ananas ananassoides*, an ornithophilous bromeliad from the Brazilian savanna. *Annals of Botany*, 109(7), 1243-1252.
- Tylianakis, J.M., Didham, R.K., Bascompte, J. & Wardle, D.A. (2008). Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11, 1351-1363.
- Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002). *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag New York.
- Willmer, P. (2011). *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press.
- Wolowski, M., Agostini, K., Rech, A.R., Varassin, I.G., Maués, M., Freitas, L., Carneiro, L.T., Bueno, R. De O., Consolaro, H., Carvalheiro, L., Saraiva, A.M. & Silva, C.I. (2019). Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil. São Carlos: Editora Cubo.
- Wray, J.C., Neame, L.A. & Elle, E. (2014). Floral resources, body size, and surrounding landscape influence bee community assemblages in oaksavannah fragments. *Ecology Entomology*, 39, 83–93.
- Wyatt, R., Broyles, S.B. & Derda, G.S. (1992). Environmental influences on nectar production in milkweeds (*Asclepia syriaca* and *A. exaltata*). *American Journal of Botany*, 79, 636–642.

Apêndice - “**Influência de alterações no regime hídrico sobre o néctar floral de *Cucurbita pepo* L.**”

Tabela 1. Seleção de modelos lineares generalizados mistos (GLMM) baseada no critério de informação de Akaike (AIC) para a variável volume de néctar. O modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
GLMM.1 (volume do néctar ~ tratamento + sexo + tratamento * sexo + (1 planta) + (1 bloco))	1452,3
GLMM.2 (volume do néctar ~ tratamento + sexo + (1 planta) + (1 bloco))	1474,7
GLMM.3 (volume do néctar ~ tratamento + (1 planta) + (1 bloco))	1557,4
GLMM.4 (volume do néctar ~ sexo + (1 planta) + (1 bloco))	1568,4

Tabela 2. Seleção de GLMM baseada no critério de informação de Akaike (AIC) para a variável concentração do néctar. O modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
GLMM.1 (concentração do néctar ~ tratamento + sexo + tratamento * sexo + (1 planta) + (1 bloco))	924,57
GLMM.2 (concentração do néctar ~ tratamento + sexo + (1 planta) + (1 bloco))	929,81
GLMM.3 (concentração do néctar ~ tratamento + (1 planta) + (1 bloco))	938,31
GLMM.4 (concentração do néctar ~ sexo + (1 planta) + (1 bloco))	1025,89

Tabela 3. Seleção de GLMM baseada no critério de informação de Akaike (AIC) para a variável miligramas totais de açúcar por flor. O modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
GLMM.1 (miligramas totais de açúcares por flor ~ tratamento + sexo + tratamento * sexo + (1 planta) + (1 bloco))	1047,8
GLMM.2 (miligramas totais de açúcares por flor ~ tratamento + sexo + (1 planta) + (1 bloco))	1045,6
GLMM.3 (miligramas totais de açúcares por flor ~ tratamento + (1 planta) + (1 bloco))	1153,3
GLMM.4 (miligramas totais de açúcares por flor ~ sexo + (1 planta) + (1 bloco))	1131,3

Tabela 4. Seleção de modelo de GLMM baseada no critério de informação de Akaike (AIC) em que o modelo selecionado foi o de menor AIC e está em negrito na tabela.

Modelo	AIC
GLMM.1 (diâmetro do nectário ~ tratamento + sexo + tratamento * sexo + (1 planta) + (1 bloco))	-160,18
GLMM.2 (diâmetro do nectário ~ tratamento + sexo + (1 planta) + (1 bloco))	-154,36
GLMM.3 (diâmetro do nectário ~ tratamento + (1 planta) + (1 bloco))	-2,103
GLMM.4 (diâmetro do nectário ~ sexo + (1 planta) + (1 bloco))	-102,29

Tabela 5. Resultados do GLMM com distribuição de erro gama baseado no modelo “volume do néctar ~ tratamento + sexo da flor + tratamento * sexo da flor + (1|planta) + (1|bloco)”. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas; EP= erro padrão. Os valores de P em negrito foram considerados significativos ($P < 0.05$).

Comparação	Efeito do tratamento				Comparação	Efeito do sexo da flor			
	Estimativa	EP	Z valor	P valor		Estimativa	EP	Z valor	P valor
PM P - SE P	-0,0706	0,0276	-2,553	0,0522	PM P- PM E	-0,0295	0,0061	-4,808	< 0,0001
PM P - 70% PM P	0,0006	0,0032	0,178	0,9980	SE P – SE E	-0,2509	0,0509	-4,926	< 0,0001
PM P – CE P	0,0054	0,0026	2,078	0,1604	70% PM P - 70% PM E	-0,0551	0,0091	-6,049	< 0,0001
SE P - 70% PM P	0,0712	0,0276	2,573	0,0494	CE P – CE E	-0,0212	0,0041	-5,134	< 0,0001
SE P – CE P	0,0760	0,0276	2,755	0,0299					
70% PM P – CE P	0,0049	0,0026	1,838	0,2552					
PM E - SE E	-0,2920	0,0432	-6,758	< 0,0001					
PM E - 70% PM E	-0,0250	0,0105	-2,382	0,0805					
PM E – CE E	0,0137	0,0069	1,976	0,1972					
SE E - 70% PM E	0,2670	0,0437	6,106	< 0,0001					
SE E – CE E	0,3057	0,0430	7,107	< 0,0001					
70% PM E – CE E	0,0387	0,0096	4,010	0,0004					

Tabela 6. Resultados do GLMM com distribuição de erro Gaussiana baseado no modelo “concentração do néctar ~ tratamento + sexo da flor + tratamento * sexo da flor + (1|planta) + (1|bloco)”. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas; P= flores pistiladas; E= flores estaminadas; EP= erro padrão. Os valores de P em negrito foram considerados significativos (P < 0.05).

Efeito do tratamento					Efeito do sexo da flor				
Comparação	Estimativa	EP	Razão T	P valor	Comparação	Estimativa	EP	Razão T	P valor
PM P - SE P	-0,015339	0,00424	-3,616	0,0017	PM P- PM E	-0,003243	0,00140	-2,313	0,0207
PM P - 70% PM P	-0,000935	0,00166	-0,564	0,9428	SE P – SE E	-0,018972	0,00493	-3,848	0,0001
PM P – CE P	-0,000227	0,00150	-0,152	0,9988	70% PM P - 70% PM E	-0,003952	0,00150	-2,628	0,0086
SE P - 70% PM P	0,014405	0,00423	3,402	0,0037	CE P – CE E	-0,000451	0,00117	-0,384	0.7009
SE P – CE P	0,015112	0,00419	3,606	0,0018					
70% PM P – CE P	0,000708	0,00155	0,455	0,9686					
PM E - SE E	-0,031068	0,00314	-9,906	<0,0001					
PM E - 70% PM E	-0,001644	0,00165	-0,998	0,7508					
PM E – CE E	0,002566	0,00149	1,718	0,3141					
SE E - 70% PM E	0,029425	0,00318	9,245	<0,0001					
SE E – CE E	0,033634	0,00310	10,834	<0,0001					
70% PM E – CE E	0,004209	0,00158	2,658	0,0393					

Tabela 7. Resultados do GLMM com distribuição de erro gama baseado no modelo “miligramas totais de açúcares por flor ~ tratamento + sexo da flor + (1|planta) + (1|bloco)”. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas; P= flores pistiladas; E= flores estaminadas; EP= erro padrão. Os valores de P em negrito foram considerados significativos ($P < 0.05$).

Efeito do tratamento					Efeito do sexo da flor				
Comparação	Estimativa	EP	Z valor	P valor	Comparação	Estimativa	EP	Z valor	P valor
PM - SE	1,835	0,154	0,154	< 0,0001	PM P- PM E	1,22	0,0858	14,221	< 0,0001
PM - 70% PM	0,275	0,142	0,142	0,2140	SE P – SE E	1,22	0,0858	14,221	< 0,0001
PM – CE	-0,437	0,134	0,134	0,0059	70% PM P - 70% PM E	1,22	0,0858	14,221	< 0,0001
SE - 70% PM	-1,560	0,161	0,161	< 0,0001	CE P – CE E	1,22	0,0858	14,221	< 0,0001
SE – CE	-2,271	0,151	0,151	< 0,0001					
70% PM – CE	-0,711	0,140	0,140	< 0,0001					

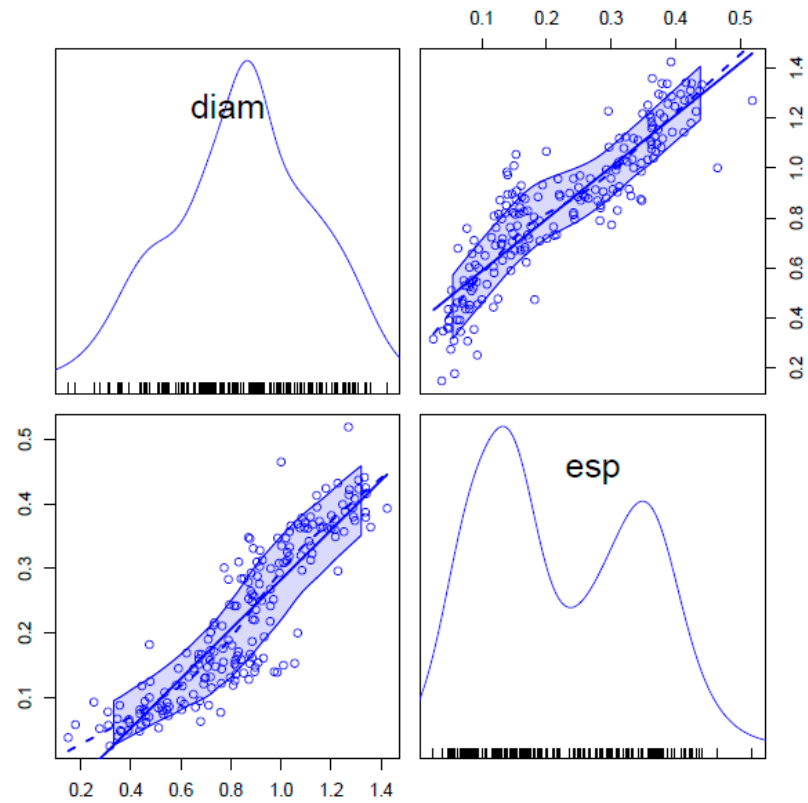


Figura 1. Representação gráfica do resultado do teste de correlação de Kendall entre as variáveis espessura do nectário e diâmetro do nectário, sendo Z valor= 15,547, P valor= < **2,2e-16** e Tau= 0,7462192. Valores de P em negrito foram considerados significativos. Diam= diâmetro do nectário e esp= espessura do nectário.

Tabela 8. Resultados do GLMM com distribuição de erro Gaussiana baseado no modelo “diâmetro do nectário ~ tratamento + sexo da flor + tratamento*sexo da flor + (1|planta) + (1|bloco)”. PM= 177 ml diariamente, equivalente a 100% da pluviosidade média mensal do mês de setembro em Botucatu; CE= 278 ml diariamente, simulando um aumento exacerbado de pluviosidade; 70% PM= 124 ml diariamente, simulando uma redução de 30% da pluviosidade sobre a média mensal de setembro para Botucatu; e SE= sem irrigação até 70% de seus indivíduos apresentaram sinais de murcha, seguido da irrigação com 278 ml, a fim de simular eventos extremos de seca prolongada seguido de chuvas intensas; P= flores pistiladas; E= flores estaminadas; EP= erro padrão. Os valores de P em negrito foram considerados significativos (P < 0.05).

Comparação	Efeito do tratamento				Comparação	Efeito do sexo da flor			
	Estimativa	EP	Z valor	P valor		Estimativa	EP	Z valor	P valor
PM P - SE P	0,2995	0,0933	3,209	0,0073	PM P- PM E	0,438	0,043	10,184	<0,0001
PM P - 70% PM P	0,121	0,058	2,087	0,1571	SE P – SE E	0,617	0,0974	6,337	<0,0001
PM P – CE P	-0,0416	0,0502	-0,829	0,8408	70% PM P - 70% PM E	0,489	0,0548	8,929	<0,0001
SE P - 70% PM P	0,1785	0,0974	1,833	0,2579	CE P – CE E	0,323	0,0374	8,64	<0,0001
SE P – CE P	0,3412	0,0928	3,675	0,0014					
70% PM P – CE P	0,1627	0,0572	2,845	0,023					
PM E - SE E	0,4788	0,0713	6,719	<0,0001					
PM E - 70% PM E	0,1723	0,0637	2,70	0,0346					
PM E – CE E	-0,1567	0,0563	-2,785	0,0274					
SE E - 70% PM E	0,3065	0,0762	4,024	0,0003					
SE E – CE E	0,6356	0,0701	9,069	<0,0001					
70% PM E – CE E	0,329	0,0623	5,28	<0,0001					

Tabela 9. Resultados do GLMM com distribuição de erro gama baseado no modelo “miligramas totais de açúcares produzido por planta durante a floração ~ tratamento + (1|planta) + (1|bloco)”.

Comparação	Estimativa	EP	Z valor	P valor
PM - SE	-0,10205	0,00614	-16,612	< 0,0001
PM - 70% PM	-0,00251	0,00374	-0,67	0,9083
PM – CE	0,00431	0,00348	1,239	0,6018
SE - 70% PM	0,09954	0,00611	16,294	< 0,0001
SE – CE	0,10636	0,00595	17,869	< 0,0001
70% PM – CE	0,00681	0,00342	1,994	0,19

1 **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

2

3 Reduções drásticas no regime hídrico causaram alterações em diversos
4 caracteres vegetais de *C. pepo*, mas não naqueles diretamente ligados à reprodução de
5 espécie, como nas estruturas portadoras dos gametas. Portanto, não observamos efeitos
6 da seca na produção de grãos de pólen e óvulos de *C. pepo*. Em um cenário de seca
7 extrema, como o simulado pelo tratamento [SE], há menores quantidades de flores
8 pistiladas e estaminadas produzidas durante toda a floração da abobrinha, sendo as
9 pistiladas mais afetadas quando comparadas às estaminadas. Quase metade dos
10 indivíduos do tratamento de seca extrema [SE] não produziram flores pistiladas, o que
11 pode impactar a produção de frutos e a capacidade da planta de deixar descendentes.
12 Podemos pensar que, em área de cultivo, neste cenário de redução da pluviosidade, seria
13 necessário irrigação mais frequente para manter a produtividade, o que pode levar a
14 questões relacionadas à escassez de água e aumento de custo da produção.

15 Já as características do néctar de flores estaminadas sofreram maiores alterações
16 do que as de flores pistiladas, que apresentaram respostas apenas no tratamento de seca
17 extrema [SE]. O volume, concentração e miligramas totais de açúcar presentes no néctar
18 foram os mais afetados pela redução no regime hídrico, embora tenhamos observado
19 também alterações no tamanho de seus nectários. Menores quantidades de açúcares
20 totais presentes no néctar, analisados juntamente com os resultados do Capítulo 1 sobre
21 o total de flores abertas durante a floração de *C. pepo* indicam uma potencial redução na
22 disponibilidade calórica aos polinizadores dessa espécie vegetal, por hectare cultivável.
23 A diminuição do aporte calórico contido no néctar pode comprometer a atração dos
24 polinizadores da abobrinha, afetando não só a reprodução de espécie, e
25 consequentemente sua produção de frutos, mas também causando um declínio dos
26 polinizadores na região ocasionado por mudanças no recurso floral coletado por eles.

27 Consideramos de importância geral estudos como este para preenchimento de
28 lacunas no conhecimento científico, permitindo um maior entendimento de como as
29 mudanças climáticas, principalmente crescentes períodos de seca, irão impactar nossos
30 ecossistemas e seus processos. Maior entendimento desses efeitos pode auxiliar na
31 criação de diretrizes e políticas públicas capazes de mitigar os efeitos das mudanças
32 climáticas, sejam eles econômicos, sociais, culturais ou ambientais.