

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

TENDÊNCIAS EVOLUTIVAS EM *NICOTIANA ALATA* LINK & OTTO (SOLANACEAE):
RELAÇÕES ENTRE SUCESSO REPRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS
EM UMA POPULAÇÃO DO SUL DO BRASIL



SUIANE SANTOS OLEQUES

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

TENDÊNCIAS EVOLUTIVAS EM *NICOTIANA ALATA* (SOLANACEAE): RELAÇÕES
ENTRE SUCESSO REPRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS EM UMA
POPULAÇÃO DO SUL DO BRASIL

SUIANE SANTOS OLEQUES

Monografia apresentada à Comissão de Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, *campus* São Gabriel, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Rubem Samuel de Avila Jr.

Rio Grande do Sul

Maio de 2013

TENDÊNCIAS EVOLUTIVAS EM *NICOTIANA ALATA* (SOLANACEAE): RELAÇÕES
ENTRE SUCESSO REPRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS EM UMA
POPULAÇÃO DO SUL DO BRASIL

SUIANE SANTOS OLEQUES

ORIENTADOR: RUBEM SAMUEL DE AVILA JR.

Monografia submetida à Comissão de Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências
Biológicas, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada por:

Presidente, Professor Dr. Rubem Samuel de Avila Jr.

Professor Dr. Ângelo Schneider

Dr^a Margéli Albuquerque

São Gabriel, maio de 2013.

Trabalho Realizado no Laboratório de Estudos em Biodiversidade Pampiana (LEBIP)
Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA); *campus* São Gabriel.

Orientador: Rubem Samuel de Avila Jr.

Campus São Gabriel, UNIPAMPA, Rio Grande do Sul, Brasil

Ninguém pode construir em teu lugar as pontes que
precisarás passar, para atravessar o rio da vida.

- Ninguém, exceto tu, só tu. Existem, por certo,
atalhos sem números, e pontes, e semideuses que se
oferecerão para levar-te além do rio; mas isso te
custaria a tua própria pessoa; tu te hipotecarias e te
perderias. Existe no mundo um único caminho por
onde só tu podes passar. Onde leva?

Não perguntes, segue-o!

Friedrich Nietzsche

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a todos os professores que fizeram parte da minha vida acadêmica nestes quatro anos de graduação. Valorizo e admiro cada um por todos os ensinamentos. Muitos de vocês ministraram muito mais que aulas sobre um conteúdo específico e sim aulas de motivação, aulas que transbordavam a paixão pela profissão que escolheram. Ao meu primeiro orientador Cháriston dal Belo: meu muito obrigada. Me orientou com toda sua educação, paciência e serenidade durante um ano e meio. Foi valioso este tempo que pude conviver com o senhor, embora infelizmente a farmacologia não tenha me conquistado.

Algumas pessoas têm o dom de transmitir e contagiar as demais com o amor que possuem pelo que fazem. Por isso, agradeço ao professor Rubem Avila que, através de suas aulas de Ecologia, despertou em mim a coragem de mudar o rumo no último ano de graduação e fazer o que eu realmente gostava. Obrigada por acreditar que eu seria capaz de desenvolver um bom trabalho, mesmo saindo de uma área completamente diferente e tendo que começar tudo do zero aos 45 minutos do segundo tempo. Agradeço cada palavra de motivação, cada explicação, cada ajuda em campo e cada “piração”. Tudo isso feito com muita humildade e profissionalismo.

Palavras são poucas para agradecer minha mãe Luciane. Minha amiga, minha confidente, meu teto e meu chão. A pessoa com quem vivi e dividi momentos importantíssimos na vida: muitos perrengues, dificuldades, mas também muitas conquistas e muitas alegrias. Mãe, eu quero dizer que é um privilégio ter passado por tudo que passamos juntas e hoje poder te ver realizada profissionalmente e pessoalmente e além de tudo poder dividir este momento contigo. Agradeço a meus avôs Maria e Luiz pelo apoio em todos os momentos, pelo amor incondicional que foi essencial para que eu pudesse vencer esta etapa. À minha irmã Emily pelo carinho e ao meu pai João que mesmo distante sempre me apoiou e incentivou. Enfim, agradeço a minha família, pois das tantas vezes que desanimei foi pensando em vocês que eu recuperei minhas forças, foi uma simples ligação e uma palavra de carinho que me fez feliz por ter vocês.

Dizem que os amigos são a família que escolhemos, então posso dizer que escolhi muito bem esta família. Um agradecimento especial a minha amiga de todas as horas: Rosana (Pink), pois foi durante esses quatro anos minha segunda família me ajudando, apoiando e

enfrentando as dificuldades da vida acadêmica ao meu lado. Pink! Quero que saiba que foram valiosos esses quatro anos ao lado de uma amiga como você. Temos muitas histórias pra contar e te admiro muito. Obrigada por me aturar como amiga, colega, companheira de campo e ainda por cima dividir o mesmo teto comigo.

Obrigada Darlionei, Gillian e Gian. Dividimos bem mais que bons e maus momentos. Dividimos trabalhos, barracas, risadas, histórias, copos, colchões, grana e ressacas. Sou grata pela amizade, pelo companheirismo, pelos puxões de orelha, pela compreensão e pela paciência. Vou levá-los comigo sempre. Não poderia esquecer Daniela e Gabriela. Obrigada por tudo gatas. Vocês muitas vezes coloriram meus dias cinzentos e suportaram minhas mais terríveis crises! Agradeço também a Nega (Marcela), pela leitura do trabalho, pelo apoio e pelas palavras de motivação. Por último, mas não menos importante: Obrigada Daniel Slipaka, amigo que pude contar sempre que precisei ao qual possuo muito carinho.

RESUMO

A seleção natural atuante em diferentes atributos florais é fundamental para a manutenção do sucesso reprodutivo em populações vegetais. As variações em características florais são essenciais para verificar os efeitos da seleção natural em curtos períodos de tempo. *Nicotiana glauca* apresenta características típicas de plantas polinizadas por esfingídeos. Estes agentes polinizadores são reconhecidos por apresentar flutuações populacionais que podem interferir nas taxas reprodutivas de plantas esfingófilas. O estudo foi realizado entre os anos de 2011 e 2012 no município de São Gabriel, RS e teve por objetivo responder as seguintes questões: (i) As variações no comprimento do tubo da corola e na área dos lacínios da flor interferem no sucesso reprodutivo da população? (ii) Há variação nas taxas reprodutivas ao longo do período de floração? (iii) A longevidade floral pode ser uma característica suscetível à seleção na população estudada? A produção de sementes não apresentou correlação com as variações no comprimento da corola ($r = 0,31$; $p = 0,07$) nem com a área de “display” floral ($r = 0,35$; $p = 0,11$) na população. Porém, pode-se observar uma variação no tamanho médio da corola entre os anos de estudo, sendo maior no ano de 2011 ($74,75 \text{ mm} \pm 12,28$) em relação a 2012 ($63,94 \text{ mm} \pm 6,29$) (Teste T, $t = 6,24$; $p < 0,0001$). Foi possível observar um aumento na frequência de flores com comprimentos intermediários (60 a 75 mm) na população em 2012, com maiores valores nas taxas de frutificação e produção média de sementes ($100\%, 1078,9 \pm 327,29$). As taxas reprodutivas foram distintas ao longo da floração, com valores maiores na taxa de frutificação e produção média de sementes na fase inicial ($100\%, 1110,88 \pm 378,18$) em relação à fase final ($73\%, 597,04 \pm 459,03$) (ANOVA, $F = 8,22$, $p = 0,0002$). A ocorrência de limitação polínica foi restrita as fases intermediárias do período de floração (Teste t: fase II $t = 3,60$, $p = 0,0002$, fase III $t = 3,09$, $p = 0,0023$). Houve decréscimo da longevidade floral entre os anos de estudo (de 9 para 7 dias). A taxa de frutificação variou entre os distintos períodos de exposição das flores ($\chi^2 = 15,88$; $p = 0,001$). A população de *N. glauca* variou em relação a diversas características florais durante os anos de estudo, podendo ser observadas distintas tendências evolutivas para a população. Isto demonstra que fenômenos ecológicos como limitação polínica, ocorrência de Efeito de Allee e competição intraespecífica, podem ocorrer tanto espacialmente quanto temporalmente e que características ligadas ao sucesso reprodutivo podem estar suscetíveis a variações em curtos períodos de tempo.

Palavras-chave: Polinização, esfingófila, seleção natural, sucesso reprodutivo, características florais.

ABSTRACT

The natural selection act in distinctive floral traits and it is important to reproductive success maintenance in plant populations. The floral traits variations have a great effect to verify the natural selection effects in short long time. *Nicotiana glauca* shows hawkmoth flowers traits. Hawkmoths are recognized to presents population fluctuation that can affect the reproductive success. This study was made in 2011 and 2012 years in São Gabriel municipality, Rio Grande do Sul state and addressed the follow questions: (i) The corolla tube length and corolla lobes variations affect the reproductive success in this population? (ii) Is there variation in the reproductive success along to flowering season? (iii)The floral longevity could be a trait susceptible to natural selection in the population studied? The seed set is not correlate to corolla length variations ($r = 0.31$; $p = 0.07$) neither the display floral area ($r = 0.35$; $p = 0.11$). However, was observed a significative variations in the corolla length between 2011 ($74.75 \text{ mm} \pm 12.28$) and 2012 ($63.94 \text{ mm} \pm 6.29$) (T Test, $t = 6.24$; $p < 0.0001$). The frequence of intermediate categories of corolla length (60 to 75 mm) increases in 2012 and higher fruit and seed set was observed to this category (100%, $1078.9 \text{ seeds} \pm 327.29$). The same reproductive parameters presents variation along to flowering season with higher values in the beginning with 100% of fruit set and $1110.88 \text{ seeds} \pm 378.18$ versus 73 % of fruit set and $597.04 \text{ seeds} \pm 459.03$ in the end of flowering (ANOVA, $F = 8.22$, $p = 0.0002$). Pollen limitation was observed only in the intermediated phases of flowering (T Test: phase II, $t = 3.60$, $p = 0.0002$, phase III $t = 3.09$, $p = 0.0023$). The floral longevity decreasing (9 to 7 days) and there was variation in the fruit set between the different time of flower exposition ($\chi^2 = 15.88$; $p = 0.001$). The population studied presents variation in different floral attributes that promote distinctive evolutionary tendencies to this population. These results indicate that ecological phenomena, like pollen limitation, Allee Effect and intraspecific competition could be occur spatially and temporaly and traits associated to success reproductive can be more susceptible to variations in short long time.

Key-word: Polination, Sphingophily, natural selection, reproductive success, floral traits.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	6
RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	11
1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Síndromes de polinização e Sistemas de Polinização.....	12
1.2. Evolução de Características Florais via Ação de Polinizadores.....	13
1.3. Considerações Sobre Limitação Polínica.....	15
1.4. Longevidade floral.....	15
2. OBJETIVO	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Área de estudo.....	17
3.2. A espécie estudada: <i>Nicotiana alata</i>	18
3.3. Seleção fenotípica e dados morfométricos.....	18
3.4. Fenologia e Limitação Polínica.....	19
3.5. Longevidade floral.....	20
4. RESULTADOS	20
4.1. Morfometria Floral e Seleção Fenotípica.....	20
4.2. Fenologia e Limitação Polínica.....	24
4.3. Valor Adaptativo da Longevidade Floral em <i>N. alata</i>	25
5. DISCUSSÃO	26
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa de localização da área de estudo. Município de São Gabriel estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Marcação em verde indica o local exato da área de estudo.	17
Figura 2 - A) Flores de <i>Nicotiana alata</i> . A região em vermelho representa os limites utilizados da flor para as medidas de comprimento do tubo da corola (mm). B) Área compreendida pelos lacínios da corola em <i>Nicotiana alata</i> como indicativo de <i>display</i> floral.....	19
Figura 3 - Médias do comprimento da corola entre os anos de 2011 e 2012 na população de <i>N. alata</i> . Box plots representam média, média \pm erro padrão e média $\pm 1,96$ erro padrão.....	21
Figura 4 – Número de flores distribuídas em distintos intervalos de comprimento da corola na população de <i>N. alata</i> nos anos de 2011 e 2012.	22
Figura 5 - Intervalos de comprimentos observados na população de <i>N. alata</i> . Box plots representam os valores médios da produção de sementes por fruto, média \pm erro padrão e média $\pm 1,96$ erro padrão.	22
Figura 6 - Correlação Spearman entre as variáveis: produção de sementes e tamanho do tubo da corola para população de <i>N. alata</i> . Correlação não significativa ($r= 0,31$; $p= 0,07$).	23
Figura 7 - Correlação de Spearman entre área do display floral e número de sementes produzidas. Não houve correlação significativa entre as variáveis analisadas ($r=0,35$; $p=0,11$).....	23
Figura 8 - Produção média de sementes por fruto para polinização natural (cinza) e manual (cinza escuro) nas quatro fases de floração na população estudada de <i>N. alata</i>	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxa de Frutificação e produção média de sementes nos diferentes intervalos de comprimento da corola em uma população de <i>N.alata</i> em São Gabriel, RS, 2012.	21
Tabela 2 - Taxa de frutificação e média da produção de sementes em ambos os tratamentos para as diferentes fases da floração. São Gabriel, RS, 2012.	24
Tabela 3 - Sucesso Reprodutivo feminino ao longo da longevidade floral em <i>N. alata</i> na população de São Gabriel, RS, 2012.....	26

1. INTRODUÇÃO

1.1. Síndromes de polinização e sistemas de polinização

Os primeiros estudos sobre polinização foram realizados por Kölreuter (1761) e Sprengel (1793), estes tratavam das relações entre plantas e polinizadores e as estruturas florais que promoviam essas interações (Mârza & Tarnavschi, 1967; Fenster *et al.*, 2004). Mais tarde, Darwin (1862), entre outros (Vogel, 1950) defendeu a ideia de que as diversas formas e recompensas florais seriam adaptações a tipos específicos de polinizadores, originando o conceito de “síndromes de polinização” (Fenster *et al.*, 2004). Estes estudos demonstram que os sistemas de polinização baseados no conceito de síndromes tendem, ao longo da evolução, a especialização (Obermuller *et al.*, 2008) e apenas estruturas morfológicas são suficientes para designar relação entre planta-polinizador.

Porém, com o avanço dos estudos sobre a polinização, atualmente a ideia de síndromes vem sendo questionada (Waser, 2000, Mayfield, 2001, Ollerton, 2009). Vários dados observacionais mostram que diversas flores são visitadas por numerosas espécies animais, o que põe em discussão a visão darwinista sobre a convergência evolutiva entre plantas e polinizadores (Fenster *et al.*, 2004; Yamamoto *et al.*, 2007). Neste sentido, Stebbins (1970) aponta que na determinação das características florais os vários agentes polinizadores atuam diferencialmente nas taxas reprodutivas das plantas e assim, surgem dois componentes importantes na história ecológica-evolutiva: o quantitativo (frequências dos diferentes polinizadores) e qualitativo (qualidade do pólen transportado).

As interações entre plantas e polinizadores passaram a ser observadas, levando-se em consideração as características que interferem no sucesso reprodutivo das espécies vegetais, buscando o entendimento dos vários fatores biológicos relacionados às interações planta-animal (Ramirez & Brito, 1987). Isto porque apenas a morfologia floral, em alguns casos, pode não ser suficiente para determinar que polinizadores são os mais efetivos de uma espécie vegetal (Regal, 1982). É importante ressaltar que os estudos atuais não ignoram que o conceito de síndromes de polinização traga abordagens importantes, apenas apontam que pode haver uma ampla generalização dos sistemas de polinização. Assim, mesmo em plantas aparentemente generalistas quanto ao grupo de polinizadores pode haver um polinizador em específico que melhor contribua em termos reprodutivos para a planta, podendo este ser o principal agente na seleção de características florais. (Obermuller *et al.*, 2008).

A distinção entre sistemas de polinização generalistas e especialistas, segundo Johnson & Steiner (2000) é apenas uma simplificação para fins de debate do que na verdade representa um “*continuum*” entre plantas polinizadas por várias espécies de polinizadores e plantas polinizadas por apenas uma espécie. Alguns estudos abordam que plantas com sistemas de polinização generalistas tendem a ter menor probabilidade de experimentar forte seleção nos traços florais, enquanto sistemas mais especializados mostram com maior frequência os efeitos da seleção. Tal fato estaria relacionado à visão darwinista de convergência evolutiva entre plantas e seus polinizadores (Johnson & Steiner, 2000; Barret, 2001; Fenster *et al.* 2004; Waser *et al.*, 2006).

Outro ponto importante de se salientar é o fato de que sistemas especializados tendem a ser mais suscetíveis a processos estocásticos ambientais, sendo assim plantas que experimentam altos índices de limitação polínica tendem ao longo do tempo experimentar uma generalização em termos de polinizadores a fim de diminuir os riscos de extinção (Johnson & Steiner, 2000; Knight *et al.*, 2005).

1.2. Evolução de características florais via ação de polinizadores

As flores são consideradas estruturas chave na evolução das angiospermas, pois são responsáveis pelo processo de reprodução sexuada de tais plantas (Endress, 2000; Willis & McElwain, 2002). Para desempenhar esta função as espécies podem apresentar estruturas que possibilitem estratégias que otimizem o sucesso reprodutivo. Sendo assim, as variações entre os atributos destas estruturas reprodutivas foram muitas vezes atribuídas como forma de ajuste aos diferentes tipos de polinizadores (Proctor *et al.*, 1996; Barrett, 1998; Fenster *et al.*, 2004). Porém, vale ressaltar o importante papel das possíveis restrições filogenéticas ocorrentes em alguns táxons (Soltis *et al.*, 2006). Tais variações nas estruturas sexuais das angiospermas possuem papel fundamental na diversificação deste grupo. Tanto as variações inter como intra-específicas podem ser resultantes de interações com diferentes vetores em distintos sistemas de polinização (Barret, 2011). Estas variações podem estar associadas à forma, dimensões da corola, disposição de anteras e estigmas, quantidade e tipo do recurso floral disponível, simetria, além da longevidade floral (Eckhar, 1991; Herrera, 1993; Harder, 2005). Apesar de muitas vezes pequenas, as variações fenotípicas podem afetar a contribuição da flor no sucesso reprodutivo da espécie através de modificações nas taxas de frutificação e na quantidade de pólen exportado em nível populacional (Podolsky, 1993).

A produção de sementes e as taxas de frutificação são limitadas pela adequada deposição de pólen no estigma em muitas populações de plantas (Ashman *et al.*, 2004; Sandrig & Agren, 2009), isto sugere que características que afetam a visita dos polinizadores ou a eficiência da polinização podem ser objetos de seleção natural mediada pelos agentes polinizadores (Ashman & Morgan, 2004 ; Sandrig & Agren, 2009). O tipo de característica floral a ser selecionado dependerá da espécie da planta, do agente polinizador, da história de vida da planta, do sistema reprodutivo entre outros fatores (Harder & Johnson, 2005).

Além disso, a dinâmica espaço-temporal das interações entre plantas e seus polinizadores atuam decisivamente na diversificação de formas florais (Herrera, 1988, Thomson, 1996; Fenster *et al.*, 2004). Alguns estudos de longo período demonstram que o conjunto de polinizadores varia geograficamente e temporalmente, o que sugere que as plantas encontram-se em um regime de seleção que se altera continuamente de acordo com estas variáveis (Herrera, 1988, Thomson 1996, Campbell *et al.*, 1997).

Em casos de sistemas mais especializados como, por exemplo, plantas esfingófilas, o comprimento do tubo da corola é um atributo floral altamente suscetível à seleção por agentes polinizadores (Nilsson, 1988; Jermy, 1999; Johnson *et al.*, 2002). Tal fato pode estar relacionado ao tamanho da probóscide do polinizador e sua capacidade de alcançar o recurso disponível, ou seja, no adequado acoplamento de partes florais e dos atributos morfológicos da planta (Hodges *et al.*, 2000). Neste caso, estes atributos poderão interferir na eficiência da polinização (Johnson & Steiner, 1997, Alexandersson & Johnson, 2002). Alguns estudos com orquídeas e demais plantas esfingófilas (Nilsson 1988; Herrera, 1991; Johnson & Steiner 1997; Alexandersson & Johnson, 2002) demonstram a relação positiva entre o comprimento do tubo floral e sucesso reprodutivo. Esta característica pode influenciar na quantidade de pólen exportado e recebido pela flor, nas taxas de frutificação e produção de sementes. Outro atributo que possui um importante papel na atração de polinizadores é o “*display*” floral, palavra que pode ser atribuída à forma como a planta ou a população é visualizada pelo polinizador. O “*display*” floral pode estar relacionado ao número, forma, área, disposição ou cor das flores. Estudos demonstram que as variações deste atributo influenciam diretamente no sucesso reprodutivo de algumas espécies vegetais (Eckhart, 1991; Ishii & Sakai, 2002; Mitchell *et al.*, 2004; Harder & Johnson, 2005; Sandrig & Agren, 2009). Isto porque espécies ou indivíduos com maior *display* floral tendem a ser melhor visualizados pelos polinizadores, aumentando as taxas de visitas e por consequência o “*fitness*” dos mesmos.

1.3. Considerações sobre limitação polínica

A limitação polínica é um fenômeno comumente encontrado em Angiospermas, tendo diversas consequências para o “*fitness*”, podendo também estar associado ao processo evolutivo de uma série de características florais em populações de plantas (Knight *et al.* 2005; Harder & Aizen, 2010). Este fenômeno ocorre quando a quantidade ou qualidade do pólen recebido durante o processo de polinização é insuficiente para fertilizar óvulos disponíveis, resultando em uma redução na produção de frutos ou sementes (Darling & Barrett, 2011). A sinergia de diferentes fatores ambientais pode estar associada à ocorrência de limitação polínica. Dentre eles a cofloração de espécies de plantas de mesma guilda ecológica, patógenos, visitantes florais que atuam como “pilhadores”, herbívoros (Vázquez & Simberloff, 2004) e a fragmentação ou degradação de habitats (Lopes *et al.* 1998; Moody-Weys, 2001).

Características ligadas à história de vida das plantas determinam respostas diferentes à limitação polínica. Por exemplo, espécies de plantas autoincompatíveis ou dióicas tendem a ser mais vulneráveis a perturbações que implicam no aumento do nível da limitação polínica, do que espécies com um ciclo de vida maior ou monóicas (Freitas *et al.*, 2010). Além disso, espécies especialistas em relação a polinizadores também são mais propensas a experimentar limitação polínica do que espécies generalistas (Kinight *et al.*, 2005; Barret *et al.*, 1999). As espécies generalistas apenas poderão apresentar consequências da limitação polínica quando ocorrer um empobrecimento no conjunto de polinizadores já que as diferentes espécies polinizadoras possuem efeitos complementares sobre o “*fitness*” da planta (Gómez *et al.*, 2007). Deste modo, a limitação polínica tende a ser um dos fatores determinantes para a evolução de caracteres florais, fazendo com que a seleção natural atue sobre as variações ocorrentes na população, fixando características que atenuem os efeitos da possível limitação polínica incrementando o sucesso reprodutivo (Hegland *et al.*, 2008).

1.4. Longevidade floral

Pode-se evidenciar que o tempo tem um importante papel para reprodução das plantas. Sendo que a época, a duração da floração e o período em que a flor permanece aberta podem afetar direta ou indiretamente o “*fitness*” (Enzinga, 2007). A longevidade floral é definida como o tempo de duração da flor desde sua primeira abertura (antese) até o murchar das pétalas ou o desprendimento da flor (senescência) (Doorn, 1997). Possui um papel importante na reprodução e ecologia de plantas (Castro *et al.*, 2008), pois o tempo em que uma flor permanece funcional e expõe suas partes reprodutivas influencia diretamente no número

total de visitas dos polinizadores, afetando na quantidade e na qualidade do pólen recebido e exportado pela flor (Ashman & Shoen, 1996; Harder & Jhonson, 2005).

Angiospermas são bastante diversas quanto ao tempo de duração das flores. Isso pode sugerir que a longevidade floral, assim como o período da floração, pode representar uma característica adaptativa a diferentes condições ecológicas, tanto a fatores abióticos como temperatura e disponibilidade de água (Yakasa *et al*, 1998), quanto bióticos, como frequência de visitas do polinizador (Ashmam & Shoen, 1994). Além disso, características intrínsecas da espécie, como o sistema reprodutivo (Sato, 2002) atuam conjuntamente na definição da longevidade. Segundo Ashman & Shoen (1997) as plantas que possuem flores com longevidade maior aumentam seu sucesso reprodutivo, porém despendem de muita energia para manter os órgãos reprodutivos funcionais e atrativos aos polinizadores. Deste modo, é preciso haver um equilíbrio entre os custos energéticos para manutenção floral e as taxas reprodutivas femininas e masculinas (Evanhoe & Galloway, 2002).

Estudo realizado por Primack (1985) demonstrou que as características do habitat podem constituir força seletiva importante na determinação da longevidade floral, além dos sistemas de polinização. Deste modo, plantas que apresentam flores com longevidade menor poderiam refletir maior adaptação a condições climáticas mais estáveis e conseqüentemente, mais favoráveis à visita dos polinizadores. O contrário poderia ser esperado em espécies vegetais de ambientes instáveis (maior estocasticidade ambiental) em relação às condições climáticas que poderia estar relacionado à maior necessidade de tempo de exposição das flores à visita dos polinizadores, conferindo maior longevidade.

2. OBJETIVO

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo principal responder as seguintes questões: i) As variações no comprimento do tubo da corola e na área dos lacínios (*display* floral) da flor interferem no sucesso reprodutivo de uma população de *Nicotiana alata* Link & Otto entre 2011 e 2012? Nossa expectativa era de que as variações no comprimento do tubo da corola e na área dos lacínios da flor observadas influenciassem nas taxas reprodutivas, indicando a possível ação dos polinizadores como agentes seletivos, deste modo favorecendo algum intervalo dentro desta variação na população. ii) Há variação nas taxas reprodutivas ao longo do período de floração em *N. alata*? Já em relação à fenologia, nossa hipótese era de que houvesse variação nas taxas de frutificação, produção de sementes e limitação polínica ao longo da floração em *N. alata*. iii) A longevidade floral pode ser uma característica suscetível

à seleção na população estudada? Para este atributo a hipótese central era de que existisse variação nas taxas de frutificação e produção de sementes ao longo de diferentes intervalos da longevidade floral.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O presente estudo foi realizado no município de São Gabriel, Rio Grande do Sul, de setembro de 2011 a novembro de 2012. O município de São Gabriel, com altitude em torno de 114 m, está inserido no bioma Pampa, na região correspondente a Depressão Central próximo ao rebordo do Planalto Sul-Riograndense. Possui um clima caracterizado como sub-temperado com outono e verão secos (Maluf, 2000). A área de estudo fica localizada as margens da BR-290 () e foi escolhida por abrigar uma população numerosa da espécie *N. alata*. Esta área é caracterizada por estar em constante processo de reestruturação devido a constante retirada da vegetação, o que contribui para abundância da espécie, sendo a mesma descrita como ruderal (Cabrera, 1979; Vignoli- Vignoli-Silva, 2004).

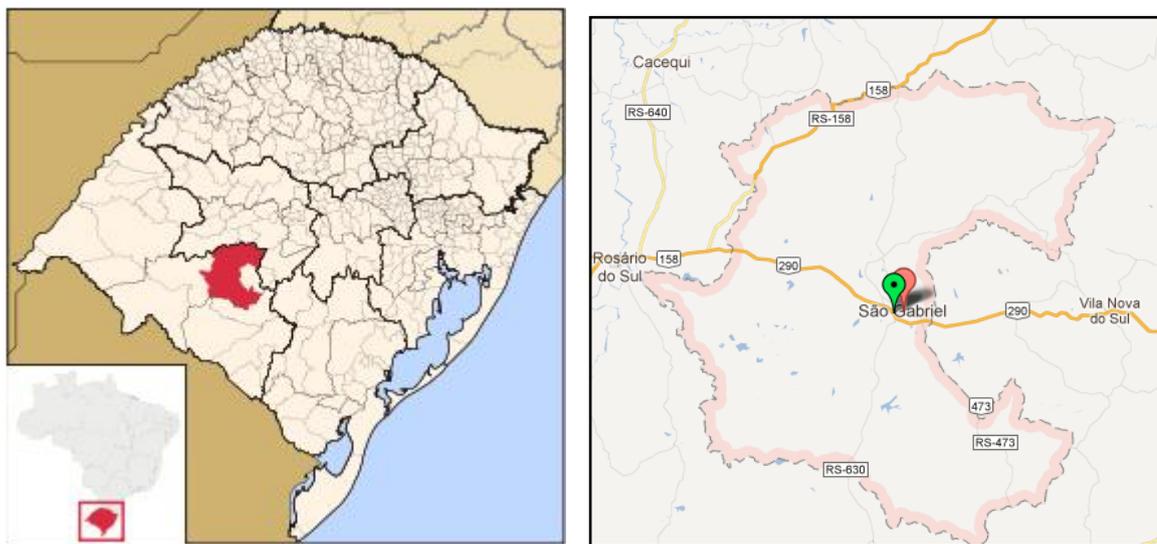


Figura 1- Mapa de localização da área de estudo. Município de São Gabriel estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Marcação em verde indica o local exato da área de estudo. (Fonte: Wikipedia e Google Maps)

3.2. A espécie estudada: *Nicotiana alata*

Nicotiana alata possui ampla distribuição, ocorrendo no sul do Brasil (Paraná e Rio Grande do Sul), Uruguai, Argentina e Paraguai (Goodspeed *et al.*, 1954). No estado do Rio Grande do Sul a espécie habita margens de estradas, paredões rochosos e bordas de matas e campos, tendo facilidade em ocupar ambientes alterados por ser considerada uma planta ruderal. Possui floração ao longo do ano inteiro com pico nos meses de setembro a fevereiro, a frutificação se dá ao longo da floração (Vignoli-Silva & Mentz, 2005). A espécie apresenta hábito herbáceo e é considerada anual ou bianual. Apresenta corola hipocrateriforme, tubo da corola com tamanho variável entre 30-100 mm de comprimento, coloração variando entre branco, creme e rosa-suave, possui antese floral crepuscular e sinalização de recursos via liberação de odores (Vignoli-Silva & Mentz, 2005; Raguso *et al.*, 2006). Sendo estas características típicas de plantas polinizadas especialmente por mariposas da família Sphingidae (Haber & Frankie, 1989; Avila Jr. *et al.*, 2011). Estudo realizado por Ippolito *et al.* (2004) demonstrou que a espécie *N. alata* é visitada por mariposas da família Sphingidae principalmente as espécies *Agrius cingulata* e *Eumorpha labruscae* e raramente por outros polinizadores como beija-flores, por exemplo.

Existem vários estudos envolvendo a espécie *N. alata* principalmente referentes à bioquímica (Gane *et al.*, 1995; Raguso *et al.*, 2003), biologia molecular (Anderson *et al.* 1986; Bruce *et al.*, 1990; Miller *et al.*, 2000), filogenia (Knapp *et al.*, 2004) e farmacologia (Health *et al.*, 1997). Também são encontrados estudos em relação à biologia reprodutiva e fenologia (Lyons & Mully, 1991, Ippolito *et al.*, 2004; Raguso *et al.*, 2006).

3.3. Seleção fenotípica e dados morfométricos

O comprimento da corola foi medido no ano de 2011 (n= 63 flores) e 2012 (n= 62 flores) Foram avaliadas duas medidas de morfometria no ano de 2012: comprimento do tubo da corola (n= 33 flores) e área do “display” floral (n= 20 flores). Os dados morfométricos foram relacionados com número de sementes produzidas por fruto (*seed set*). Para medir o comprimento da corola as flores foram previamente marcadas, medidas com auxílio de paquímetro digital e acompanhadas até a frutificação. Para a área dos lacínios, aqui considerada como o *display* floral a ser analisado, as flores foram marcadas e fotografadas com anteparo de cor preta contendo escala de um cm. Posteriormente fez-se o cálculo da área dos lacínios florais utilizando software de imagens (ImageJ). As flores permaneceram marcadas até a formação dos frutos. Os dados morfométricos foram relacionados com o

número de sementes produzidas por fruto através do coeficiente de Correlação de Serman. A fim de verificar mudança nas médias de comprimento da corola entre os dois anos utilizou-se Teste t ($p < 0,05$). Além disso, a assimetria entre as distribuições de frequência dos comprimentos de corola nos anos foi avaliada quanto ao grau de assimetria (g1). As análises estatísticas e gráficos foram realizados nos softwares STATISTICA 5.0 e Bioestat 5.3.

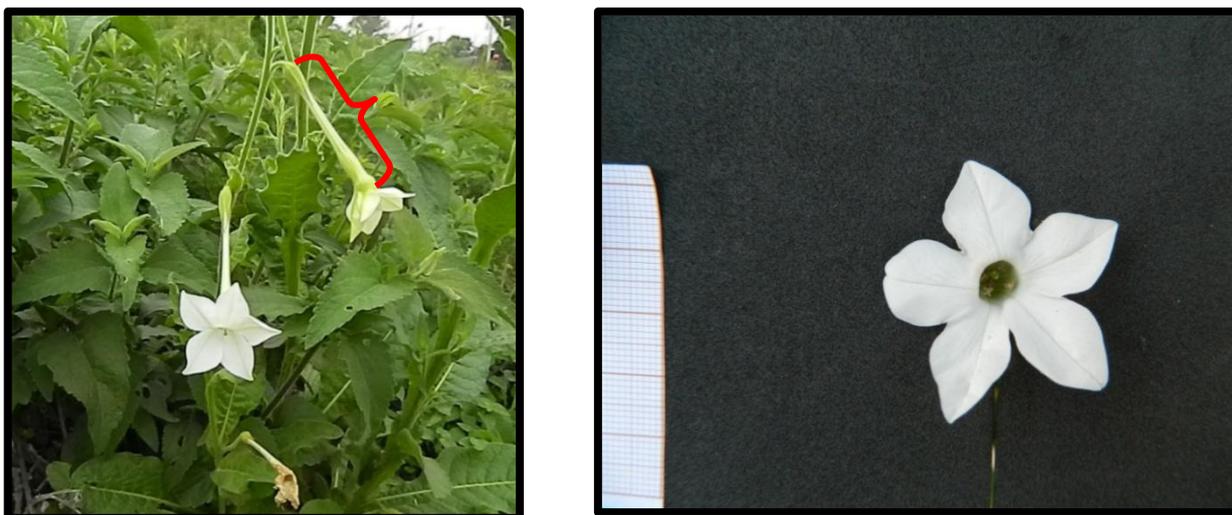


Figura 2 - A) Flores de *Nicotiana glauca*. A região em vermelho representa os limites utilizados da flor para as medidas de comprimento do tubo da corola (mm). B) Área compreendida pelos lacínios da corola em *Nicotiana glauca* como indicativo de *display* floral.

3.4. Fenologia e limitação polínica

Flores foram marcadas quinzenalmente do início da floração no mês de setembro até o mês de outubro. Marcaram-se flores para avaliar o sucesso reprodutivo e ocorrência de limitação polínica nas diferentes fases da floração. Foram determinadas quatro fases: F I, F II, F III e F IV. Fase I correspondendo à fase inicial da floração com marcações em 07 de setembro de 2012, fase II com marcações em 22 de setembro de 2012, Fase III em 09 de outubro de 2012 e fase IV com marcação em 24 de outubro. Para as fases I, II e IV marcou-se um total de 41 flores para cada fase analisada, 16 para polinização manual e 26 para polinização natural. Na F III um total de 34 flores foram marcadas, sendo 12 utilizadas para polinização manual e 22 para polinização natural.

Após a marcação os indivíduos foram acompanhados até a frutificação. Os frutos foram coletados para posterior análise das taxas de frutificação e contagem do número de sementes produzidas por fruto em flores polinizadas manualmente e sob polinização natural. Foi considerada existente limitação polínica quando a diferença entre as médias de sementes

produzidas na polinização natural foi significativamente menor que na polinização manual (Teste t $p < 0,05$). A fim de verificar se a variação no sucesso reprodutivo nas diferentes fases da floração foi significativa utilizou-se Teste de análise de variância ANOVA (unifatorial) e teste de Tukey *a posteriori*. Calculamos para as diferentes fases a taxa de frutificação (frutos formados/ flores marcadas) e a produção média de sementes por fruto.

3.5. Longevidade floral

A longevidade floral foi acompanhada no ano de 2011 ($n = 33$ botões) e 2012 ($n = 25$ botões). Os botões foram previamente marcados e monitorados desde a fase de abertura até a senescência (desprendimento da corola). No ano de 2012 avaliou-se a taxa de frutificação (*fruit set*) para cada período da abertura floral. Para isso, botões foram marcados e fechados com sacos de organza em quatro diferentes intervalos de durações da flor. Para comparar se houve diferença significativa entre as taxas de frutificação foi utilizado teste Qui-quadrado ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1. Morfometria floral e seleção enotípica

A população estudada apresentou grande variação em ambos os atributos florais medidos. O comprimento da corola variou de 58,02 a 90,15 mm no ano de 2011. Já no ano de 2012 os comprimentos variaram de 32,77 a 81,99 mm. Houve variação significativa entre as médias do comprimento da corola nos anos de 2011 ($74,75 \text{ mm} \pm 12,28$) e 2012 ($63,94 \text{ mm} \pm 6,29$) (Teste T, $t = 6,24$; $gl = 93,21$, $p < 0,0001$), sendo possível observar uma tendência ao aumento da frequência de flores com tamanhos menores na população no ano de 2012 em relação ao ano de 2011 (Fig. 3). Os valores negativos dos graus de assimetria para a distribuição dos valores de comprimento da corola, em ambos os anos, indicam uma curva assimétrica à esquerda, mais acentuada no ano de 2012 (Grau de Assimetria, $g_1 = -0,94$) em relação ao ano de 2011 (Grau de Assimetria, $g_1 = -0,22$) (Fig. 4). Flores com comprimento da corola entre 60 e 75 mm tiveram uma maior taxa de frutificação e média de sementes por fruto em relação às flores com comprimentos menores ou maiores (Tab. 1, Fig. 5). Porém, quando comparados os valores médios para produção de sementes nos diferentes intervalos de comprimento não se obteve diferença significativa (ANOVA, $F = 2,39$, $gl = 2$, $p = 0,11$). Quando relacionadas às medidas do comprimento da corola ($n = 33$ flores) com o número de sementes produzidas por fruto não se obteve relação significativa (Fig. 6) entre as variáveis (Correlação de Sperman, $r = 0,31$; $p = 0,07$).

A área do *display* floral variou na população entre 3,37 e 25,21 cm², sendo que a média para a população foi de 9,44 cm² ± 4,57. Não houve relação significativa quanto à área do *display* floral e a produção de sementes na população estudada (Correlação de Spearman, r = 0,35; p = 0,11) (Fig. 7).

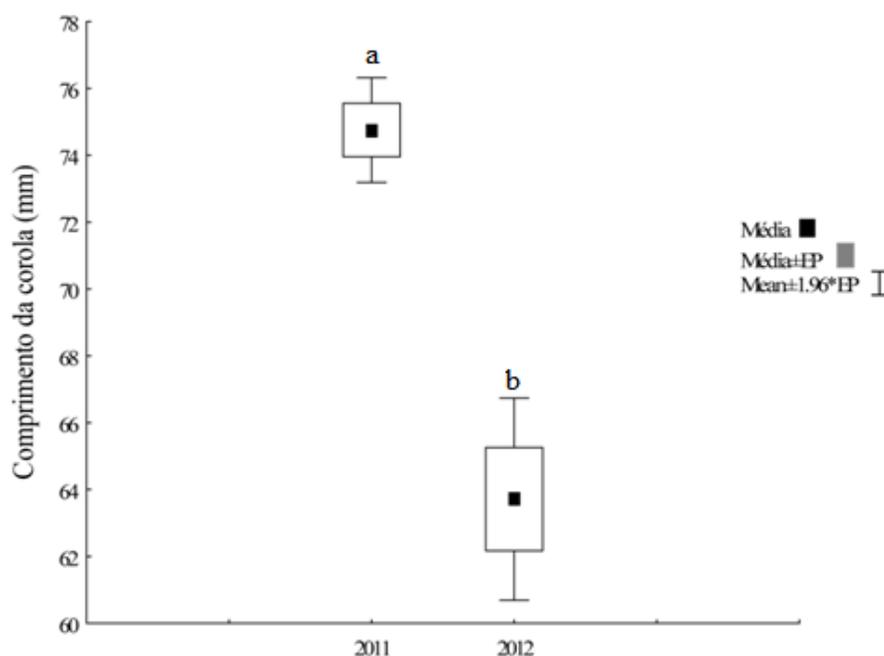


Figura 3- Médias do comprimento da corola entre os anos de 2011 e 2012 na população de *N. alata*. Box plots representam média, média ± erro padrão e média ±1,96 erro padrão.

Tabela 1 - Taxa de Frutificação e produção média de sementes nos diferentes intervalos de comprimento da corola em uma população de *N.alata* em São Gabriel, RS, 2012.

Intervalo de Comprimento	Taxa de frutificação	Média de sementes por fruto
60 - 75 mm	100% (n=16)	1078,9 ± 327,29
< 60 mm	93% (n= 14)	883, 75 ± 263,09
> 75 mm	50% (n= 6)	591, 50 ± 284,96

Diferentes intervalos de comprimento da corola observados em *N. alata* e respectivas médias e desvio padrão.

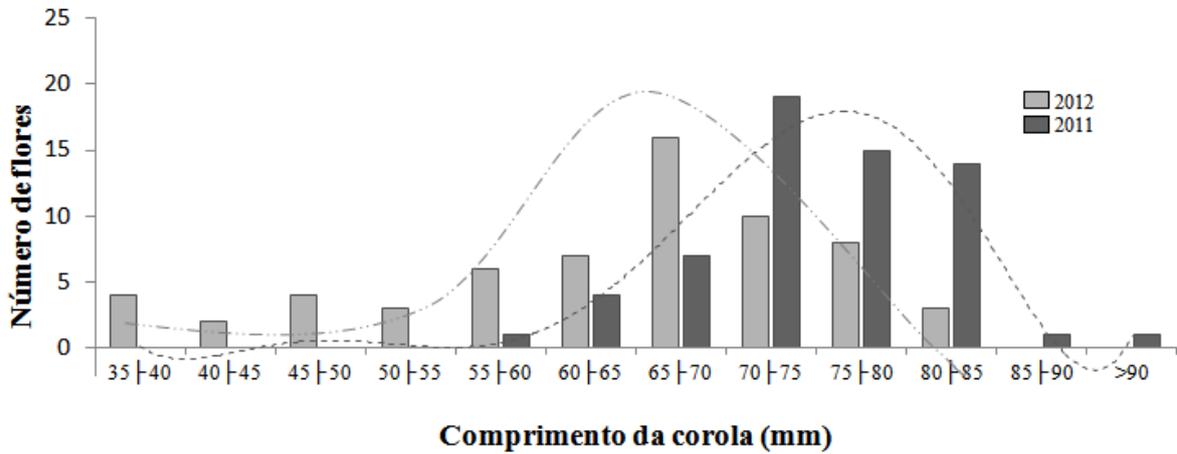


Figura 4 – Número de flores distribuídas em distintos intervalos de comprimento da corola na população de *N. alata* nos anos de 2011 e 2012.

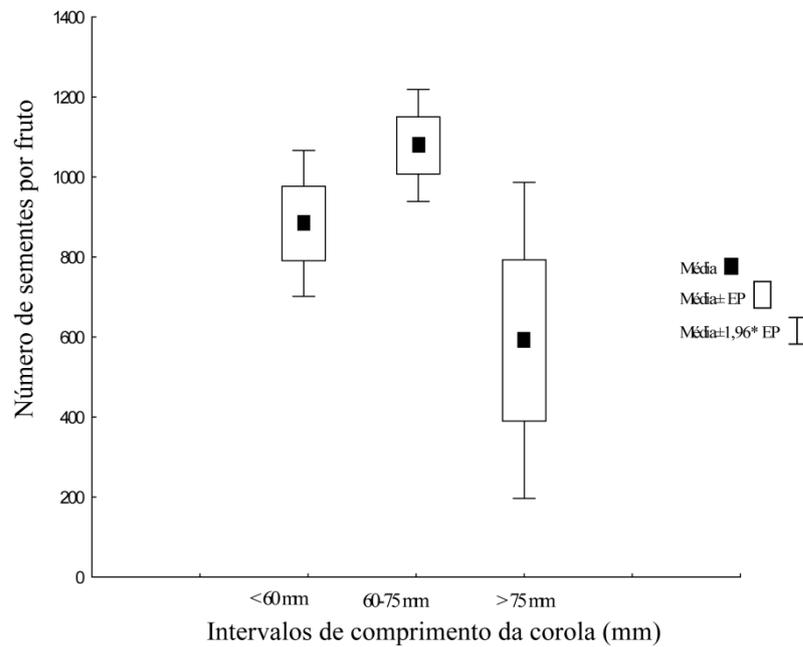


Figura 5 - Intervalos de comprimentos observados na população de *N. alata*. Box plots representam os valores médios da produção de sementes por fruto, média \pm erro padrão e média \pm 1,96 erro padrão.

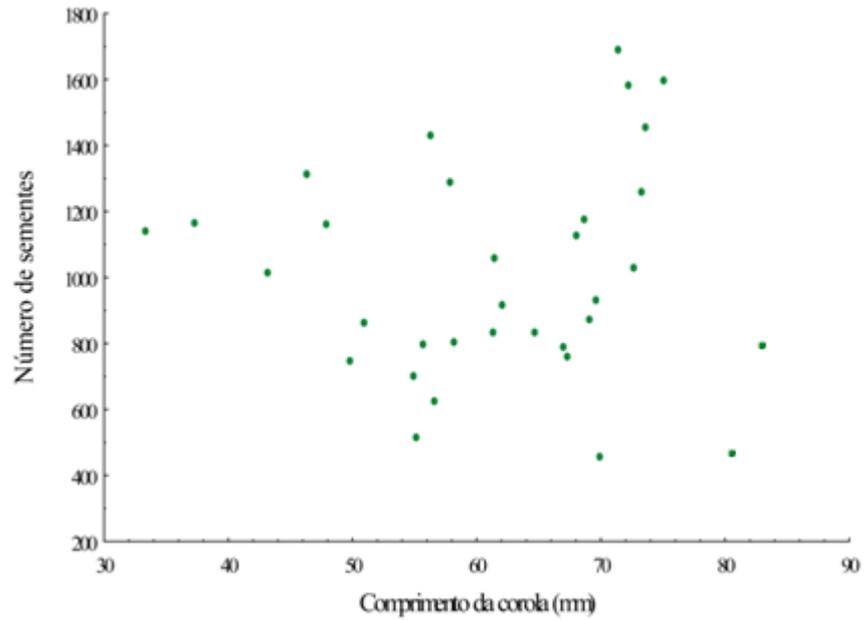


Figura 6 - Correlação Spearman entre as variáveis: produção de sementes e tamanho do tubo da corola para população de *N. alata*. Correlação não significativa ($r= 0,31$; $p= 0,07$).

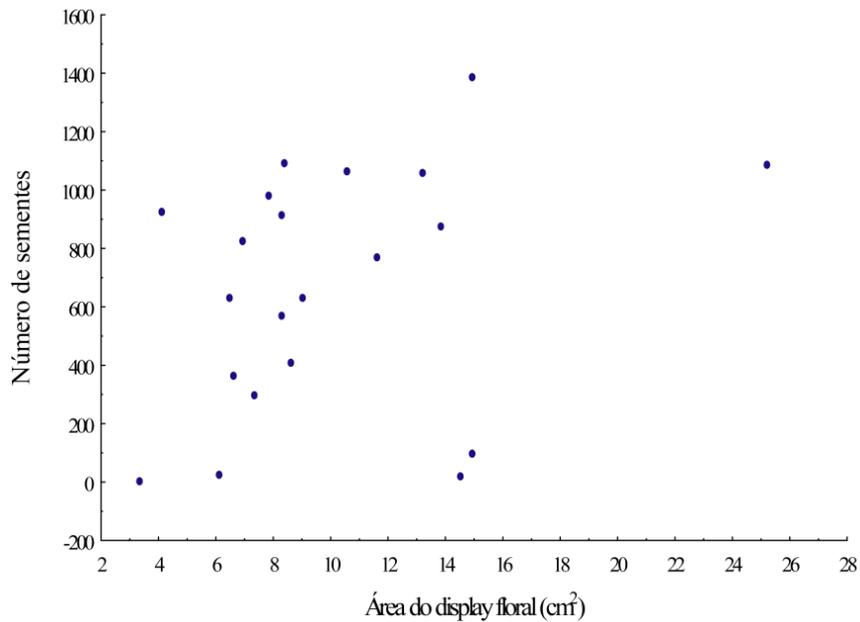


Figura 7 - Correlação de Spearman entre área do display floral e número de sementes produzidas. Não houve correlação significativa entre as variáveis analisadas ($r=0,35$; $p=0,11$).

4.2. Fenologia e limitação polínica

As fases II e III foram as que apresentaram maior densidade de indivíduos e flores na população, sendo considerado o período de 22 de setembro a 09 de outubro como o pico deste evento fenológico. A taxa de frutificação na polinização natural se conservou estável nas fases I, II e III com valores de “fruit set” elevados (90% e 100%). Porém, na fase IV houve um decréscimo na taxa de frutificação, tanto na polinização natural (73,07%) quanto na polinização manual (73,33%). A produção de sementes em polinização natural variou significativamente entre a fase inicial e final da floração de *N. alata* (ANOVA, $F= 8,22$, $gl = 3$, $p = 0,0002$). Foi observado maior valor médio de sementes por fruto em F I (1110,88 sementes \pm 378,18), seguido por F II (745,91 sementes \pm 287,80), F III (704,94 sementes \pm 337,65) e F IV (597,04 sementes \pm 459,03) (Fig. 8). A limitação polínica e a taxa de frutificação também apresentaram variação de acordo com a fase da floração (Tabela 2). Em relação à limitação polínica pode-se constatar a ocorrência do fenômeno apenas nas fases F II ($t= 3,60$; $gl = 17$; $p = 0,0009$) e F III ($t = 3,09$; $gl = 26,85$; $p = 0,0023$).

Tabela 2 - Taxa de frutificação e média da produção de sementes em ambos os tratamentos para as diferentes fases da floração. São Gabriel, RS, 2012.

Fases	Pol. Natural		Pol. manual	
	“Fruit set” (%)	Média semente Por fruto	“Fruit set” (%)	Média semente Por fruto
Fase I (07/09/12)	100% (n= 27)	1119,88	100% (n= 11)	1247,45
Fase II (22/09/12)	100% (n= 12)	745,91*	100% (n= 7)	1237,71*
Fase III (09/10/12)	90,0% (n= 18)	704,44*	100% (n= 12)	998*
Fase IV (24/10/12)	73,07% (n= 23)	581,86	73,33% (n= 16)	666,25

Fases da floração determinadas para o estudo com as respectivas datas de marcação, taxa de frutificação e média da produção de sementes (n= número de flores). * diferença significativa entre polinização natural e manual indica a ocorrência de limitação polínica ($p < 0,05$).

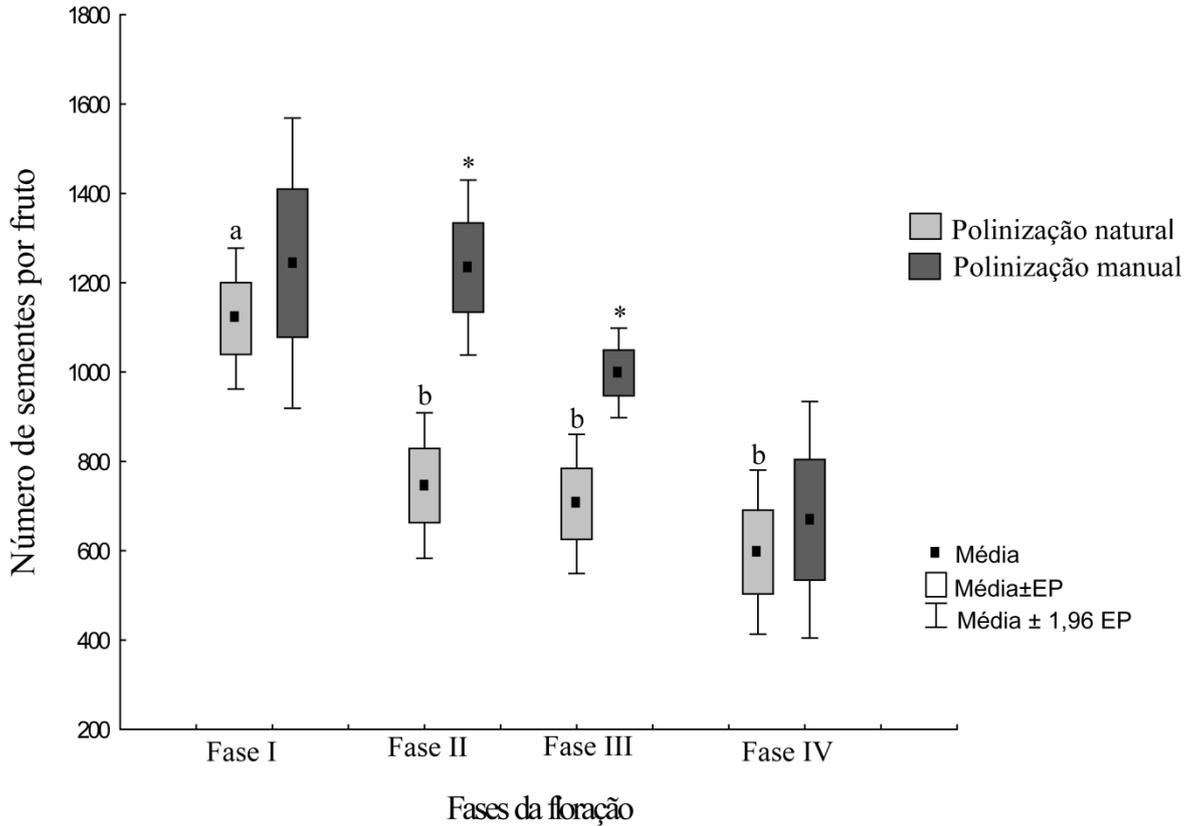


Figura 8 - Produção média de sementes por fruto para polinização natural (cinza) e manual (cinza escuro) nas quatro fases de floração na população estudada de *N. alata*. * indicam diferença na produção de sementes entre os tratamentos (limitação polínica) (ANOVA, $p < 0,05$). Letras distintas entre as fases representam diferença para a produção de sementes por polinização natural (ANOVA, $p < 0,05$).

4.3. Valor adaptativo da longevidade floral em *N. alata*

A longevidade floral também foi uma característica que variou entre os anos de estudo. No ano de 2011 as flores apresentaram uma longevidade de nove dias ($n = 33$ botões), contados da abertura da flor até o desprendimento da mesma e no ano de 2012 apresentaram duração de sete dias ($n = 25$ botões). As taxas de frutificação foram significativamente distintas (Qui-Quadrado, $\chi^2 = 15,88$; $p = 0,001$) entre os diferentes períodos de exposição das flores (Tab. 3). Pode-se notar maior taxa de frutificação quando a flor foi exposta durante cinco dias da longevidade.

Tabela 3 - Sucesso Reprodutivo feminino ao longo da longevidade floral em *N. alata* na população de São Gabriel, RS, 2012.

Período de exposição	Taxa de frutificação	Fruit set (%)
1 dia (n=19)	0,368	36,8 %
3 dias (n=9)	0,555	55,5 %
5 dias (n= 9)	0,888	88,8 %
7 dias (n=13)	0,769	76,9 %

Período em que as flores permaneceram expostas a ação dos polinizadores (n= número de flores marcadas) e as taxas de frutificação correspondentes a cada período.

5. DISCUSSÃO

Nicotiana glauca variou em relação aos atributos florais medidos (comprimento da corola e área dos lacínios). Segundo Bradshaw (1965) a plasticidade fenotípica, podendo ser analisada na morfologia de plantas, tem um papel importante no processo de adaptação da planta em ambientes naturais. Neste sentido, plantas podem exibir respostas rápidas em relação a características que apresentem vantagens seletivas (Crick & Grime, 1987). Houve variação temporal significativa na população estudada em relação ao comprimento médio da corola entre os anos avaliados. Vários estudos demonstram que para plantas esfingófilas as variações nos comprimentos das probóscides dos polinizadores podem ter um papel importante na seleção de traços florais (Nilsson, 1988; Johnson & Steiner, 1997; Hodges, 2002). Porém, o papel do polinizador na seleção de traços florais pode ser mais evidente quando os órgãos reprodutivos exibem mecanismos ou disposição que possibilitem a polinização por agentes com determinadas características ou comportamento (Barret, 1998, 2002). Esta relação entre posicionamento de órgãos reprodutivos e eficiência de polinizadores pode ser analisada em várias espécies, que possuem flores brevestilicas, longestílicas ou enantiostílicas (Barret, 2002). Diferentemente de algumas espécies esfingófilas, como por exemplo gênero *Posoqueria* Aublet, que possuem mecanismo altamente especializado de deposição de pólen (Delprete, 2009), *N. glauca* apresenta seus órgãos reprodutivos no ápice da corola. Desta forma, possibilita que polinizadores com variados tamanhos de probóscides consigam entrar em contato de forma efetiva com os órgãos reprodutivos, promovendo a polinização.

Embora não se tenha observado correlação significativa entre a produção de sementes e os tamanhos da corola, pode-se evidenciar que esta característica é um traço floral altamente

suscetível a mudança em curtos períodos de tempo. A diminuição da média do comprimento da corola no ano de 2012 e a mudança nos intervalos de comprimento das flores podem estar associadas a ganhos em termos reprodutivos de flores que apresentam comprimentos menores. Estes ganhos podem estar associados não ao sucesso reprodutivo feminino, como observado neste estudo, e sim ao sucesso reprodutivo masculino aumentando a quantidade de pólen exportado (Campbell, 1989; Maad & Alexandersson, 2004). Segundo Vieyra *et al.* (2012) os traços florais também podem variar de acordo com as mudanças na assembleia de polinizadores. Neste sentido, é possível que haja uma maior disponibilidade de polinizadores com probóscides menores, favorecendo o surgimento de corolas menores e diminuindo a frequência de corolas maiores na população, embora fatores abióticos e ligados a características genéticas também possam interferir em mudanças morfológicas em plantas. Segundo Olesen & Jordano (2002), em latitudes maiores há prevalência de plantas com interações mais generalistas. Isto porque os tamanhos das redes de interação e o número de interações por espécies de planta aumentam de acordo com a latitude. Deste modo, embora *N. alata*, por ser uma espécie esfingófila, seja considerada especialista em relação ao principal polinizador, pode ocorrer em virtude da localização geográfica uma tendência à generalização.

O “*display*” floral medido, entendido aqui como a área total formada pelos lacínios da corola, também não teve relação significativa com a produção de sementes. Neste caso, pode-se considerar que o *display* floral individual possivelmente não apresente influência direta na atração de polinizadores em *N. alata*, mas sim o *display* produzido por todos os indivíduos da população, conforme demonstram alguns estudos (Cohen & Shmida, 1993; Doorn, 1997; Knight, 2003). Por se tratar de uma planta essencialmente esfingófila o odor emitido pelas flores pode ter uma maior influência na detecção do recurso por parte dos polinizadores do que o visual (Raguso *et al.*, 2003). Além disso, o “*display*” floral apresentado pelo conjunto de flores pode se tornar um componente mais importante do que o “*display*” apresentado por cada flor individualmente, já que tais polinizadores são atraídos por manchas de recursos que indiquem suprir suas necessidades energéticas (Voiht & Winter, 1999; Moody-Weys & Heiwood, 2001). Segundo Cohen & Shmida (1993) o “*display*” floral produzido pela alta densidade de indivíduos florescendo ao mesmo tempo facilita a detecção visual pelos agentes polinizadores, aumentando a probabilidade de visita.

O sucesso reprodutivo, medido na taxa de frutificação e média de sementes produzidas por fruto, assim como a limitação polínica variaram ao longo da floração. O fato de a

limitação polínica ter ocorrido apenas nas fases caracterizadas como de maior densidade de indivíduos é um forte indício de que a espécie possa sofrer competição intraespecífica. Em períodos de alta densidade os polinizadores podem se tornar limitados, diminuindo a deposição de pólen e por consequência o sucesso reprodutivo em espécies vegetais (Caruso, 1999). As fases I e IV apresentaram menor densidade floral, sendo a primeira o período de início da floração e a última o período em que boa parte dos indivíduos estava em processo de senescência. Segundo Knighth (2003) o decréscimo da densidade floral pode afetar de forma negativa a interação planta- polinizador, diminuindo a probabilidade de visitas e por consequência o sucesso reprodutivo. Da mesma forma, flores em processo de senescência se tornam menos atrativas aos polinizadores, pois mesmo que ainda não tenham sido polinizadas há grandes chances de não haver néctar disponível (Doorn, 1997). Embora não tenha ocorrido limitação polínica na última fase, pode-se observar uma baixa taxa de frutificação e menor produção sementes em comparação as demais. Houve grande dificuldade de encontrar botões ou flores que ainda não estivessem em processo de senescência, diminuindo drasticamente a taxa de frutificação mesmo em flores polinizadas manualmente.

Desta forma, percebe-se que a maior produção de sementes ocorre na fase inicial da floração na população estudada, em que a densidade floral ainda não atingiu valores máximos observados, minimizando os possíveis efeitos de competição intraespecífica. Porém, ao atingir uma maior densidade a população poderia apresentar os efeitos desta competição através da ocorrência de limitação polínica. Quando a população começa a experimentar novamente valores de densidade menores (fase IV), a limitação polínica não foi observada, porém o processo de senescência e diminuição extrema da densidade floral começam a ser um fator limitante na taxa de frutificação da espécie. Segundo Klank *et al.* (2010) alta densidade de plantas pode aumentar a atração de polinizadores, mas por outro lado aumenta a competição intraespecífica, ocorrendo redução na taxa de polinização e no sucesso reprodutivo por flor. Deste modo, se evidencia que existem diferenças na densidade de indivíduos e na densidade de flores ao longo das fases da floração que podem ter um papel importante na manutenção de taxas reprodutivas da população estudada. Sendo assim, a população de *N. alata* na área de estudo deve requerer um número mínimo de indivíduos em flor que proporcione taxas reprodutivas adequadas. Tal fato pode corroborar a possível ocorrência de Efeito de Allee nesta população (Kuussaari *et al.*, 1998; Hackney *et al.* 1999; Stephens *et al.*, 1999). Neste caso, se observa o efeito de Allee em uma escala temporal, com diminuição do número de indivíduos ao longo do tempo e por consequência, de parceiros

reprodutivos. Isto fica evidente no final do período de floração com a diminuição extrema nas taxas reprodutivas da população.

Com relação à longevidade floral, em estudo realizado por Lyons & Mully (1991) a espécie *N. alata* apresentou uma longevidade de apenas três dias. Tal fato contrasta com o observado na população estudada com longevidade mínima de sete dias entre os anos de estudo. Sabe-se que plantas que apresentam flores com maior longevidade buscam aumentar as chances de polinização e geralmente estão associadas a ambientes em que há uma menor probabilidade de visitas, sendo necessário expor seus órgãos reprodutivos por um período de tempo maior (Ashman & Schoen, 1995; Doorn, 1997; Sato, 2002; Castro *et al.*, 2008). Porém, manter flores expostas por períodos de tempo maiores pode ser uma estratégia bastante custosa em termos energéticos (Ashman & Schoen, 1995; Doorn, 1997; Sato, 2002; Castro *et al.*, 2008). Neste sentido, as plantas devem apresentar flores com longevidades que equilibrem os ganhos em termos reprodutivos em relação aos gastos na manutenção das flores. A espécie *N. alata* apresentou maior taxa de frutificação quando as flores permaneceram expostas por um período de cinco dias. No período máximo de sete dias houve redução na produção de frutos, isso pode refletir um maior custo energético na manutenção de flores por um período mais longo, por meio de aumento da alocação de recursos para a manutenção floral. Os resultados demonstram que possivelmente em algum momento desfavorável, em termos de disponibilidade de polinizadores, foi vantajoso manter flores com longevidades maiores. Porém, a polinização tornou-se mais eficiente e o sucesso reprodutivo começou a ser alcançado em períodos de tempo menores, tornando desvantajoso para a planta manter as flores funcionais por longos períodos. Primack (1985) demonstrou que em florestas temperadas, durante a primavera, as espécies apresentam uma longevidade média de 6,9 dias e no verão uma longevidade média de 5,7 dias. Porém em florestas tropicais a longevidade média máxima atingida é de apenas 3,3 dias. Isto demonstra que a espécie *N. alata* tem uma longevidade que se assemelha a espécies de climas temperados, já que área de estudo se localiza em uma região com clima considerado sub-temperado (Maluf, 2000).

Neste sentido, assume-se que a longevidade floral pode ser uma característica suscetível à seleção natural em *N. alata* podendo desempenhar um papel importante na otimização do sucesso reprodutivo. Assim, dois cenários poderiam ser vislumbrados na história evolutiva de *N. alata*: flores de maior longevidade poderiam ser vantajosas em cenários de baixas taxas reprodutivas e baixo custo de manutenção de flor e quando ambas

variáveis fossem altas, flores de menor longevidade poderiam ser selecionadas (Castro *et al.*, 2008).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A população de *N. alata* variou em relação a diversas características florais durante os anos de estudo (2011 e 2012), podendo ser observadas distintas tendências evolutivas para a população. Em relação ao comprimento da corola este estudo evidenciou a possível seleção de flores com comprimentos de corola intermediários, indicando a possível ocorrência de seleção do tipo estabilizadora, embora estudos moleculares sejam indicados para melhor evidenciar esta tendência. Maiores valores em taxas reprodutivas em classes intermediárias podem estar relacionadas a uma adequação morfológica floral a polinizadores mais diversificados (com distintos comprimentos de probóscide, p.ex.).

As distintas fases do período de floração da população estudada apresentaram diferentes contribuições em termos reprodutivos para a população. Assim, existe a grande probabilidade de efeitos de densidade nas taxas reprodutivas observadas em *N. alata*. Isto demonstra que fenômenos ecológicos que podem ser influenciados pela densidade populacional, como limitação polínica, ocorrência de Efeito de Allee e competição intraespecífica, podem ocorrer tanto espacialmente quanto temporalmente.

Em relação à longevidade floral, os maiores valores das taxas reprodutivas em longevidades intermediárias pode ser um indicativo de vantagens adaptativas para estes períodos na população estudada. Isto pode estar relacionado à eficiência do principal grupo polinizador associado a possível minimização dos custos de manutenção floral em flores com maior longevidade.

Este estudo se mostra importante por ressaltar o quanto distintas características ligadas ao sucesso reprodutivo podem estar suscetíveis a variações em curtos períodos de tempo, reforçando a ideia de que espécies vegetais podem estar em constante regime de seleção mediada pelos polinizadores.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, M. A. *et al.* Cloning of cDNA for a stylar glycoprotein associated with expression of self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. *Nature*, v. 321, p. 38-44, 1986.

ASHMAN, T. L. & SHOEN, D. J. Floral longevity: Fitness consequences and resource cost. In: LLOYD, D. G & BARRET, S.C.H. *Floral Biology- Studies on floral evolution in animal-pollinated plants*. New York: Edições Chapman & Hall.1995. p. 121-138.

_____ & SHOEN, D. J. How long should flowers live? *Nature*, v. 371, n. 27, p. 788-790, 1994.

AVILA JR, R. S. *et al.* Tipos polínicos encontrados em esfingídeos (Lepidoptera, Sphingidae) em área de Floresta Atlântica do sudeste do Brasil: uso da palinologia no estudo de interações ecológicas. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 33, n. 3, p. 415- 424, 2010.

BARRET, S. C. H. The Evolution of plant sexual diversity. *Nature*, v. 3, p. 274- 284, apr. 2002.

_____. The Evolution of Mating Strategies in Flowering Plant. *Elsevier Science*, v. 3, n. 9, p. 335-341, 1998.

_____ & LARSON, B. M. H. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society*. v. 69, p. 503-520, 2000.

_____ Why Reproductive Systems Matter for the Invasion Biology of Plant, In: RICHARDSON, M. D. *Fifty years of invasion ecology: The legacy of Charles Elton*. Ontario: Edições Blackwell Publishing. 2011. p. 197-200.

BRADSHAW, A. D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. In: CASPARI, E. W. *Advances in genetic*. New York: Edições Academic Press Inc. p.115-151, 1965.

BRUCE, A. M. *et al.* Self-incompatibility in *Nicotiana alata* involves degradation of pollen rRNA. *Nature*, v. 347, p. 457-460, 1990.

CABRERA, A. L. Solanaceae. In: BURKART, A. (Edição). *Flora Ilustrada de Entre Rios*. Buenos Aires: INTA. t. 6, n. 5. p. 346-452, 1979.

CAMPBELL, D. R. Measurements of selection in a hermaphroditic plant: Variation in male and female pollination success. *Evolution*, v. 43, n. 2, p. 318-334, 1989.

CAMPBELL, D. *et al.* Components of phenotypic selection: Pollen export and flower corolla width in *Ipomopsis aggregata*. *Evolution* v. 45, p.1458-1467, 1991.

CARUSO, C. M. pollination of *Ipomopsis aggregate* (polemoniaceae): effects of intra-vs.interspecific competition. *American Journal of Botany*, v. 86, p. 663-668, 1999.

CASTRO, S. *et al.* Effect of pollination on floral longevity and costs of delaying fertilization in the Out-crossing *Polygala vayredae* Costa (Polygalaceae). *Annals of Botany*, v. 102, p. 1043-1048, 2008.

_____ ; SILVEIRA, P & NAVARRO, L. Effect of pollination on floral longevity and costs delaying fertilization in the out-crossing *Polygala vayredae* Costa (Polygalaceae). *Annals of Botany*, v. 102, p. 1043-1048, 2008.

COHEN, D. & A. SHMIDA. The evolution of flower display and reward. *Evolutionary Biology*, v. 27, p. 197-243, 1993.

COPLAND, J. B. & WHELAN, J. R. Seasonal variation in flowering intensity and pollination limitation on fruit set four co-occurring *Bankisia* species. *Journal of Ecology*, v. 77, n. 3, p. 509-523, 1989.

CRICK, J. C. & GRIME, J.P. Morphological plasticity and mineral nutrient capture in two herbaceous species of contrasted ecology. *New Phytol*, v. 107, p. 403-414, 1987.

CRUDEN, R. W. Pollen grains: why so many? *Plant Sistematic Evolution*,v. 222, p. 143-165, 2000.

DARLING, E. S; BARRETT, S.C.H. Sit-and-wait pollination in the spring flowering woodland plant, *Trillium grandiflorum*. *Journal of Pollination Ecology*, v.5, n.11, p. 81-85, 2011.

DARWIN, C. *On the Various Contrivances by which British and Foreign Orchids are Fertilised by Insects*. London: John Murray, 1862.

DELPRETE, P. G. Taxonomic history, morphology, and reproductive biology of the Tribe Posoquerieae (Rubiaceae, Ixoroideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 96, p. 79-89, 2009.

DOORN, G. W. Effects of pollination on floral attraction and longevity. *Journal of Experimental Botany*,v.48, p. 1615-1622, 1997.

DUAN, Y.W. *et al.* Interannual fluctuations in floral longevity, pollinator visitation of an alpine plant (*Gentiana straminea* Maxim., Gentinaceae) at two altitudes in the Qinghai-Tibetan Plateau. *Plant Sistematic and Evolution*, v. 267, p. 255-265, 2007.

ECKHAR, V. M. The Effects of floral display on pollinator visitation vary among populations of *Phacelia linearis* (Hydrophyllaceae). *Evolutionary Ecology*, v. 5, p. 370-384, 1991.

ENDRESS, K. P. & IGERSEIM, A. Gynoecium structure and evolution in basal Angiosperms. *International Journal of Plant Sciences*, v.161, n. 6, p.211- 2313, 2000.

EVANHOE, L. & GALLOWAY, L. F. Floral longevity in *Campanula americana* (Campanulaceae): A Comparison of morphological and functional gender phases. *Journal of Botany*, v.4, p. 587-591.

FENSTER, C. B. *et al.* Pollination syndromes and the evolution of floral diversity in *Iochroma* (Solanaceae). *Evolution*, v.63, p.2758-2762, 2009.

_____ *et al.* Pollination syndromes and floral specialization. *Ecology, Evolution and Systematics*, v.35, p. 375–403,2004.

FERREIRA, P. A. & VIANA, B. F. Pollination biology of *Paliavana tenuiflora* (Gesneriaceae: Sinningeae) in Northeastern Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, n. 24, v. 4, p. 972-977, 2010.

FREITAS, L. *et al.* Ocorrência de limitação polínica em plantas de mata atlântica. *Oecologia Australis*, v.14, n.1, p. 251-265, março, 2010.

GANE, A. M. *et al.* Structural analysis of the carbohydrate moiety of arabinogalactan proteins from stigmas and styles of *Nicotiana glauca*. *Carbohydrate Research*, v. 277, p. 67-85, 1995.

GÓMEZ, J. Changes in pollinator fauna cause spatial variation in pollen limitation. *Journal of Ecology*, v. 98, p.1243–1252, 2010.

GORI, F. F. Floral color change in *Lupinus argenteus* (Fabaceae): Why should plant advertise the location of unrewarding flowers to pollinators? *Evolution*. v.43, n. 4, p. 870-871, 1989.

GRINDELAND, J.M; SLETVOLD, N; IMS, R. A. Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology*, v.19, p. 383-390, 2005.

GUITIÁN, Javier *et al.* Variation in a Floral Morphology and Reproductive Success in *Petrocoptis grandiflora* (Caryophyllaceae). *Ann. Bot. Fennice*, v. 34, p. 35-40, 1997.

HABER, W. A. & FRANKIE, G.W. A tropical hawkmoth community: Costa Rican dry forest Sphingidae. *Biotropica*, v. 21, p. 155-172, 1989.

HARDER, L. D. & BARRETT, S. C. H. In: *Floral Biology: Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants*. (Eds. LLOYD, G. D. & BARRETT, S. C. H.) Estados Unidos da América: Campman & Hall, 1995.

_____ & JOHNSON, S. D. Adaptive Plasticity of Floral Display Size in Animal-pollinated plants. *The Royal Society*, v. 272, p. 2651–2657, oct. 2005.

HACKEY, E. E. & MCGRAW, J. B. Experimental demonstration of an Alle Effect in American Ginseng. *Conservation Biology*, v. 15, n. 1, p. 129-136, 2001.

HEALTH, R. L. Proteinase inhibitors from *Nicotiana alata* enhance plant resistance to insect pests. *Journal of Insect Phisyology*, v. 43, p. 833-842, 1997.

HEGLAND, J. S. *et al.* The relative importance of positive and negative interactions for pollinator attraction in a plant community. *Ecological Research*, v. 24, p. 929:936, 2009.

HERRERA, C. Biología y Ecología de *Viola Cazorlensis*. I. Variabilidad de Caracteres Florales. *Anales Jard. Bot. Madrid*, v. 45, p. 233-246, 1988.

IPPOLITO, A; FERNANDES, W. & HOLTSFORD, T. P. Pollinator preferences for *Nicotiana alata*, *N. forgetiana* and their F₁ hybrids. *Evolution*, v. 58, n. 12, p. 2634- 2644, 2004.

JERMY, T. Deep flower for long tongues: a final word. *Tree*, v. 14, n. 34, 1999.

HODGES, S. A. *et al.* Genetics of Floral Traits Influencing Reproductive Isolation between *Aquilegia formosa* and *Aquilegia pubescens*. *The American Naturalist*, v. 159, p. 851-860, 2002.

JHONSON, S. D. & STEINER, E. K. Long-tougued fly pollination and evolution of floral spur length in the *Disa draconis* complex (Orchidaceae). *Evolution*, v. 51, n.1, p. 45-53, 1997.

_____ Generalization *versus* Specialization in plant pollination systems. *Tree*, v. 15, n. 4, p. 140- 143, 2000.

_____ *et al.* Specialization for hawkmoth and long-proboscid fly pollination in *Zaluzianskya* section *Nycterinia* (Scrophulariaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 138, p. 17-27, 2002.

KOLREUTER, J. G. Vorläufige Nachricht von einigen, das Geschlecht der Pflanzen betreffenden Versuchen. EUA: Cambridge University Library, 1761.

KAY , K. M. *et al.* Floral characters and species diversification. cap. 17. In: HARDER, L. & BARRETT, S. *Ecology and evolution of flowers*. Edições Oxford University, 2006.

KLANK, C. *et al.* Effect of population size on plant reproduction and pollinator abundance in a specialized pollination system. *Journal of Ecology*, v. 98, p. 1389-1397, 2010.

KNAAP, Sandra. Form in the Solanaceae on 'Various Contrivances': pollination, phylogeny and flower. *Philosophical Transactions Royal Society Biological Science*, v.395, p. 449-460, oct. 2011.

KNIGHT, T. M. *et al.* Pollen limitation of plant reproduction: pattern and process. *Annual Review Ecology, Evolution and Systematic*, v. 36, p. 467-497, 2005.

_____ Floral density, pollen limitation, and reproductive success in *Trillium grandiflorum*. *Oecologia*, v. 137, p. 557-563, 2003.

KUUSSAARI, M. *et al.* Allee effect and population dynamics in the Glanville fritillary butterfly. *Oikos*, v. 82, p. 384-392, 1998.

LLOYD, G. D. A general principle for the allocation of limited resources. *Evolutionary Ecology*. v.2 , n.2, p.175-178,1988.

LOPES, V.A & MACHADO, I. C. Floral biology and Reproductive Ecology of *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) in Northeastern Brazil. *Plant Systematic and Evolution*, v. 213, p. 71-90, 1998.

LYONS, E.E. & MULLY, T. W. Density effects on flowering phenology and mating potential in *Nicotiana glauca*. *Oecologia*, v. 91, p. 93-100, 1992.

MAAD, J & ALEXANDERSON, R. Variable selection in *Platanthera bifolia* (Orchidaceae): phenotypic selection differed between sex functions in a drought year. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 17, p. 642-640, 2004.

MÂRZA, V.D. & TARNAVSCHI, I. T. The problem of the fertilization and evolution of phanerogams in Darwin's work: a critical study. American philosophy society, v.2, p. 71-104, 1967.

MALUF, J. R. T. Nova classificação climática do estado do Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Agrometeorologia. v.8, n.1, p. 141,150, 2000.

MAYFIELD, M.M. *et al.* Exploring the most effective pollinator principle with complex flowers: bumblebees and *Ipomopsis aggregate*. Annals of Botany , v. 88, p. 591-596, 2001.

MOODY- WEYS, J. M. & HEYWOOD, J. S. Pollination limitation to reproductive success in the missouri evening primrose, *Oenothera macrocarpa* (Onagraceae). American Journal of Botany, v. 88, p. 1615-1622, 2001.

OBERMULLER, A. E. *et al.* O Contraste entre síndromes de polinização e sistemas efetivos de polinização e suas perspectivas para ecossistemas associados à Mata Atlântica. Nature online, v.6, n. 1, p. 42-47, 2008.

OLLERTON, J. *et al.* A global test of the pollination syndrome hypothesis. Annals of Botany, v. 103, p. 1471- 1480, 2009.

OLESEN, J.M. & JORDANO, P. Geographic patterns in plant- pollinator mutualistic networks. Ecology, v. 83, p. 2416- 2424, 2002.

PAZ, A. L. G., RAMANOWSKI, H. P. & MORAIS, A. B.B de. Distribution of Satyrini (Lepidoptera, Nymphalidae) in Rio Grande do Sul State, southern Brazil. The Ecological Society of Japan, 2013.

PRIMACK, R. B. Longevity of individual flowers. Annual Review of Ecology and Systematics, v.16, p.15-37, 1985.

RAGUSO, R. A. *et al.* Fragrance chemistry, nocturnal rhythms and pollination “syndromes” in *Nicotiana*. Phytochemistry, v. 63, p. 265-284, 2003.

RAMIREZ, N. & BRITO, Y. Patrones de floracion y frutificacion en una comunidad pantanosa tipo mirichal (Calaboso-guarico, Venezuela). *Acta Científica Venezolana*, v. 38, p. 376- 381, 1987.

REGAL, J. P. Pollination by wind and animals: ecology of geographic patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 13, p. 497-524, 1982.

SANDRIG, S. & AGREN, J. Pollinator-mediated selection on floral display and flowering time in the perennial herb *Arabidopsis lyrata*. *Evolution*, v. 63, p. 292-300, 2009.

SATO, H. The role autonomus self-pollination in floral longevity in varieties of *Impatiens hipophilla* (Balsaminaceae). *American Journal of Botany*, v. 89, n. 2, p. 263-269, 2002.

SCHLICHTING, C. D. & LEVIN, D. A. Phenotypic plasticity of annual phlox: testes of some hypotheses. *American Journal of Botany*, v. 71, p. 252-260, 1984.

SINGER, R. B. & SAZIMA, M. The pollination mechanism of three sympatric *Prescottia* (Orchidaceae: Prescottinae) species in southeastern Brazil. *Annals of Botany*, v.88, p. 999-1005, 2001.

SPRENGEL, C. K. *Das entdeckte Geheimnis der Natur im Bau und in der Befruchtung der Blumen*. Berlin: Cramer, 1793.

SOLTIS, E. D. *et al.* Phylogeny and evolution of angiosperms. *international journal of plant sciences*. v. 167, n. 3, p. 607-611, 2006.

STEBBINS, L. G. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, i: pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematic*, v.1, p. 307-326, 1970.

STEPHENS, P. A. *et al.* What is the Allee effect? *Oikos*, v. 87, n. 1, p. 185-190, 1999.

THOMSON, D. J. Comparative studies of pollen and fluorescent dye transport by bumble bees visiting *Erythronium grandis* Horum. *Oecologia*, v. 69, p. 561-566, 1986.

VÁZQUEZ, P.D. & SIMBERLOFF, D. Indirect effects of an introduced ungulate on pollination and plant reproduction. *ecological monographs*, v.74, n. 2, p. 281-308, 2004.

VIEYRA, S. *et al.* Temporal variation in selection on floral traits in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology*, 2012.

VOIGT, C. C. & WINTER Y. Energetic cost of hovering flight in nectar-feeding bats (Phyllostomidae: Glossophaginae) and its scaling in moths, birds and bats. *Journal of Comparative Physiology*, v. 169, p. 38- 48, 1999.

VIGNOLI-VIGNOLI-SILVA, M. Os gêneros *Nicotiana* L., *Bouchetia* Dunal e *Nierembergia* Ruiz & Pav. (Solanaceae) no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

VIGNOLI-VIGNOLI-SILVA, M & MENTZ, L. A. O gênero *Nicotiana* L. (Solanaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia*, v. 60, n. 2, p. 151 – 173, 2005.

WASER, M. N & OLLERTON, J. Plant pollinator interactions: *From specialization to generalization*. Estados Unidos da América : The University of Chicago. 2006. Cap. 1, p. 1-17.

_____, OLLERTON, J. & ERHARDT, A. Teleology at the root of “pollination syndromes”: a critique from the past. Disponível em: <http://www.eebweb.arizona.edu>. Acesso em: 23 de janeiro de 2013.

_____ & PRICE, V. M. Pollinator behavior and natural selection for flower colour in *Delphinium nelsonii*. *Nature*, v.302, p. 422-424, 1983.

_____ *et al.* Typology in Pollination biology: lessons from an historical critique. *Journal of Pollination Ecology*, v.3, n.1, p. 1-7, 2011.

_____ Interspecific pollen transfer and competition between co-occurring plant species. *Oecologia*, v.36, p.223-236, 1978.

WILLIS, K. J. & McElwain, J. C. *The evolution of plant*. Oxford: Oxford University Press, 2002.

YAMAMOTO, F. L. *et al.* Síndromes de polinização e de Dispersão em Fragmentos da Floresta Estacional Semidecídua Montana, SP, Brasil. *Acta botanica brasílica*, v. 21, n. 3, p. 553- 573, 2007.

YASAKA, M; NISHIWAKI, Y; KONNO, Y. Plasticity of flower longevity in *Corydalis ambigua*. *Ecological Research*, v. 13, p. 211-216, 2006.

