



ESTRESSE HÍDRICO AFETA PRODUÇÃO DE FLORES, MAS NÃO AS ESTRUTURAS REPRODUTIVAS EM *CUCURBITA PEPO* L

MARIA LUISA PASSOS FRIGERO; PRISCILA TUNES; ELZA GUIMARÃES

RESUMO

Alterações nos padrões de precipitação são esperadas para as próximas décadas, com variações que podem incluir desde eventos intensos de chuvas até extensos períodos de seca. Reduções ou até mesmo aumentos na disponibilidade de água podem levar as espécies vegetais a condições de estresse hídrico, especialmente prejudiciais durante o florescimento. Como as flores são altamente custosas para a planta, o estresse hídrico pode afetar características importantes relacionadas à reprodução, como óvulos e pólen. Assim, este estudo teve como objetivo investigar como alterações na disponibilidade de água podem impactar negativamente a reprodução de uma espécie cultivável. Escolhemos *Cucurbita pepo* L., a abobrinha italiana, como modelo devido à sua importância econômica global e seu cultivo extensivo no Brasil, especialmente por pequenos produtores. Cultivamos 90 indivíduos de *C. pepo* em estufas com temperaturas variando entre 26 e 30°C e os distribuímos aleatoriamente em três grupos: (a) controle, com rega diária de 177 ml de água, correspondente à média de pluviosidade do mês de cultivo; (b) chuva extrema, com rega diária de 278 ml de água, equivalente à capacidade de campo; (c) seca extrema, onde os indivíduos foram deixados sem água até que 70% apresentassem sinais de murcha, sendo então regados com 278 ml de água. No tratamento de seca extrema, observou-se uma menor produção de flores, enquanto no tratamento de chuva extrema houve um aumento no número de flores em comparação ao controle. No entanto, ambos os tratamentos não afetaram o número de óvulos, a quantidade de grãos de pólen produzidos nem a viabilidade dos grãos. Os resultados mostram que *C. pepo* manteve uma tendência conservadora na produção de suas estruturas reprodutivas, mesmo diante das variações na disponibilidade hídrica. Em contraste, outros caracteres relacionados à reprodução, como o número de flores, demonstraram maior plasticidade. Esse cenário sugere uma possível alocação de recursos voltada para a reprodução, onde as características diretamente relacionadas à formação de descendentes são menos afetadas por flutuações ambientais.

Palavras-chave: atributos florais; chuvas intensas; escassez de água; óvulo; pólen

1 INTRODUÇÃO

Modificações na disponibilidade de água são previstas para as próximas décadas como resultado das mudanças climáticas (IPCC, 2021) e podem causar estresse para as espécies vegetais. Reduções no regime de chuvas, por exemplo, tendem a reduzir a alocação de recursos para a reprodução (LEMOINE *et al.*, 2013), podendo resultar em uma menor produção de flores (BURKLE & RUNYON, 2016; DESCAMPS *et al.*, 2018; GLENNY *et al.*, 2018; DESCAMPS *et al.*, 2020) ou em flores com características alteradas que podem impactar diretamente o sucesso reprodutivo, como a diminuição da quantidade de óvulos (CARIVEAU *et al.*, 2004; RAPOPORT *et al.*, 2019). A qualidade e a quantidade de grãos de pólen também podem ser limitadas pela disponibilidade de água (WILSON RANKIN *et al.*, 2020), uma vez que essas características são influenciadas pela umidade e pela temperatura do ambiente (PACINI & DOLFERUS, 2019). Condições de estresse causadas por fatores abióticos afetam todos os

estágios de desenvolvimento dos gametas masculinos (MESIHOVIC *et al.*, 2016). Embora estudos mostrem que a planta mãe pode controlar a hidratação dos grãos de pólen, em indivíduos submetidos a estresse hídrico, a desidratação do pólen pode ocorrer antes da dispersão. Esse estado precoce pode levar a alterações na viabilidade dos grãos de pólen e, consequentemente, afetar a reprodução das espécies vegetais (PACINI & DOLFERUS, 2019). Por outro lado, plantas submetidas a excesso de água provenientes da precipitação podem apresentar problemas nas trocas gasosas entre suas raízes e o solo e reduzir a produção de ATP (BALAKHNINA *et al.*, 2012). Nestes cenários, pode haver a redução da expansão foliar e até mesmo a senescência rápida de suas folhas (GRASSINI *et al.*, 2007), afetando as taxas de fotossíntese (SHIMONO *et al.*, 2012). Ainda que a intensidade do estresse causado pelo excesso de água varie conforme a duração do excesso, armazenamento de água no solo e regime de chuvas, um aumento em eventos de pluviosidade intensa pode resultar em lixiviação do solo, afetando a disponibilidade de importantes nutrientes fundamentais no desenvolvimento vegetal e, por consequência, na produção de suas estruturas reprodutivas.

Neste estudo, investigamos as possíveis consequências das alterações na pluviosidade previstas pelo IPCC (AR-6, 2021) sobre o investimento em estruturas reprodutivas de *Cucurbita pepo* L. (*Cucurbitaceae*). *C. pepo* é cultivada atualmente em todos os continentes e, no Brasil, está entre as dez culturas de maior produção e valor econômico (FILGUEIRA, 2003; TOREZANI, 2015), com a região Sudeste sendo a principal produtora (SERRA & CAMPOS, 2010; IBGE, 2017). Assim, nosso objetivo foi investigar se mudanças no regime hídrico afetam a produção de flores e as estruturas reprodutivas femininas e masculinas desta importante espécie agrícola.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

Com hábito prostrado e ciclo de vida anual, *Cucurbita pepo* (*Cucurbitaceae*) é uma espécie adaptada ao clima subtropical e temperado (NEPI *et al.*, 2001) e altamente dependente da polinização por animais para sua reprodução (PASSARELLI, 2002). Suas flores possuem uma corola campanulada de cor amarela e são unissexuais. As flores pistiladas têm um ovário ínfero, trilocular, e um estigma com três lóbulos sustentados em três estiletes. Já as flores estaminadas apresentam um androceu formado por cinco estames, cujos filetes e anteras estão unidos (NEPI & PACINI, 1993; PASSARELLI, 2002; BAPTISTA, 2016).

A pesquisa foi realizada durante o ano de 2021, em casa de vegetação da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, em Botucatu, São Paulo, Brasil. Para o cultivo, utilizamos sacos de 6L (25 x 25 cm) preenchidos com 1,67 kg de substrato Carolina Soil®. Para evitar interferências nos resultados devido à deficiência de nutrientes, fertilizamos o substrato com uma mistura de 4 g de Superfosfato Simples (SSP), 4 g de Termofosfato Master, 1 g de cloreto de potássio (KCl) e 1,5 g de nitrato de amônio (NH₄NO₃). A rega das mudas foi realizada com base na capacidade de campo do substrato, medida pela quantidade máxima de água que o solo pode reter após o escoamento do excesso (MANTOVANI *et al.*, 2009). Utilizamos um volume conhecido de água e regamos lentamente 40 sacos de cultivo até que a água começasse a sair pelos furos dos sacos, devolvendo o excesso ao substrato duas vezes para garantir a máxima retenção. O volume de água remanescente após as repetições foi subtraído do volume inicialmente colocado nos sacos, resultando em uma capacidade de campo média do substrato de 278 ml.

Produzimos 90 mudas de abobrinha e as alocamos aleatoriamente em três tratamentos distintos, com 30 plantas por tratamento, para simular diferentes cenários de pluviosidade previstos pelo IPCC (2021) para as próximas décadas: *Tratamento [PM]: 100% da pluviosidade média mensal de setembro em Botucatu - Controle*. Este tratamento simula as

condições naturais de pluviosidade em Botucatu (SP) no mês de setembro, que é o período mais recomendado para a semeadura de *C. pepo* na região. Calculamos a quantidade de água para a rega com base nos dados de precipitação de setembro dos anos de 1973 a 2013, obtidos na Estação Meteorológica do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas (UNESP – Câmpus de Botucatu). A média diária de pluviosidade desses 40 anos foi convertida para volume em litros, ajustada para a área da superfície do saco de cultivo, resultando em 177 ml de água a ser aplicada diariamente. *Tratamento [CE]: Chuva extrema*. Este tratamento foi projetado para simular um aumento excessivo na pluviosidade. Os indivíduos foram regados diariamente com 278 ml de água, valor que corresponde à capacidade de campo média do substrato, medida previamente. *Tratamento [SE]: Seca extrema*. Neste tratamento, os indivíduos não foram regados diariamente, ficando sem irrigação até que 70% das plantas apresentassem sinais de murcha nas folhas. Após esse ponto, as plantas foram regadas com 278 ml de água, valor baseado na capacidade de campo média do substrato, para simular eventos extremos de seca prolongada seguidos por chuvas intensas.

Estruturas reprodutivas

Registramos o número total de flores produzidas por cada planta ao longo do período de floração, tanto para flores pistiladas quanto estaminadas de *C. pepo*. Coletamos os ovários das flores frescas e os fixamos em álcool etílico a 70%. Em seguida, seccionamos longitudinalmente as paredes ovarianas para contar os óvulos em um dos três lóculos do ovário, estimando assim o número total de óvulos por flor. Coletamos também as anteras das flores frescas e as armazenamos em uma solução de carmim acético com volume conhecido e padronizado. Separarmos os grãos de pólen das anteras com a ajuda de um agitador. Utilizamos uma alíquota de 5 µl para preparar as lâminas, com o objetivo de estimar o total de grãos de pólen por flor e avaliar sua viabilidade. A viabilidade dos grãos de pólen foi avaliada com base na diferença de coloração, formato e tamanho dos grãos (KEARNS & INOUE, 1993).

Análises estatísticas

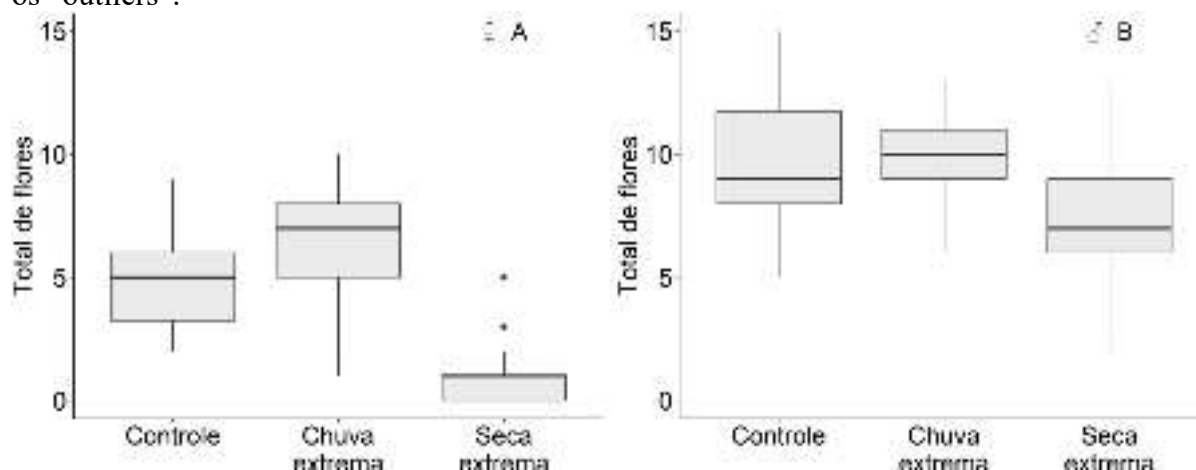
Usamos modelo linear misto (LMM) com máxima verossimilhança restrita (REML) para análise do número total de flores pistiladas e estaminadas produzidas por indivíduo ao longo do período reprodutivo em função dos tratamentos aplicados; bem como para analisar se os tratamentos aplicados afetaram o número de óvulos produzidos por flor e o número total e a viabilidade dos grãos de pólen produzidos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento de seca extrema [SE] produziu menos flores pistiladas ($0,9 \pm 1,1$; média $\pm$ desvio padrão) quando comparado ao controle [PM] ($p < 0,05$; $5,0 \pm 2,0$), contrário ao tratamento [CE], que produziu mais flores ($p = 0,0460$; Figura 1A; $6,4 \pm 2,1$).

O tratamento de seca extrema [SE] ($7,0 \pm 2,4$) foi o único que reduziu a produção de flores estaminadas quando comparado ao controle [PM] ($p < 0,0001$; Figura 1B; $9,7 \pm 2,7$).

Figura 1. Total de flores (A) pistiladas e (B) estaminadas produzidas por planta de *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) durante o período de florescimento nos três tratamentos simulando diferentes cenários de precipitação: controle [PM], chuva extrema [CE] e seca extrema [SE]. 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”.



Neste estudo, observamos que eventos extremos de redução na disponibilidade de água levaram a uma diminuição no número de flores produzidas. As flores pistiladas foram mais afetadas pela escassez hídrica em comparação às flores estaminadas, possivelmente devido à maior demanda de água dessas flores, que possuem maior volume de néctar (NEPI *et al.*, 2001; DMITRUK & WERYSZKO-CHMIELEWSKA, 2013; FRIGERO *et al.*, 2022) e um ovário suculento e bem desenvolvido (FREE, 1993). Esses fatores podem representar um dreno significativo de recursos, resultando na redução da produção de flores.

A necessidade hídrica de um cultivo está diretamente relacionada à sua demanda evapotranspirativa, que é influenciada pelas condições climáticas (AQUINO, 2019). Portanto, se cenários de escassez hídrica severa, como os simulados no tratamento [SE], se concretizarem no futuro, será necessário aumentar a frequência e a quantidade de irrigação para manter a produção de frutos em larga escala. Isso não só aumentaria o custo da produção, como também poderia agravar a situação da escassez de água global (IPCC, 2021). Para pequenos agricultores, que dominam a produção de abobrinha italiana no Brasil (IBGE, 2017), essa situação é ainda mais preocupante, pois a agricultura familiar responde por 77% dos alimentos consumidos no país (IBGE, 2017). Dificuldades no cultivo de hortaliças, que representam 63% da produção desses agricultores (IBGE, 2017), podem resultar em problemas econômicos e aumentar a insegurança alimentar.

Por outro lado, o aumento da pluviosidade resultou em maior produção de flores durante o período de floração. No entanto, essa condição pode impactar negativamente a reprodução de *C. pepo* e a produção de frutos. Altos volumes de precipitação podem alterar a viabilidade dos grãos de pólen (SUN *et al.*, 2008) ao entrar em contato com a água (AKAMINE & GIROLAMI, 1959). Além disso, grandes quantidades de chuva podem diluir o néctar (EISIKOWITCH & WOODCELL, 1975), o que pode afetar a atração dos polinizadores (CNAANI *et al.*, 2006), que precisariam coletar mais néctar para obter a mesma quantidade de energia. No cultivo, o aumento da pluviosidade pode exigir fertilização mais frequente devido à possível lixiviação de nutrientes importantes do solo, comprometendo a produtividade das plantas.

Os diferentes tratamentos de regime hídrico não impactaram o número total de grãos de pólen produzidos por flor, sua viabilidade ($p > 0,05$), nem o número de óvulos por flor ($p > 0,05$). Nossos resultados mostram que a produção de estruturas reprodutivas de *C. pepo* foi

quantitativa e qualitativamente mantida sob diferentes condições hídricas. Embora se esperasse que a redução na disponibilidade de água afetasse características dos grãos de pólen, como sua viabilidade, especialmente em condições de estresse da planta mãe, *C. pepo* demonstrou uma tendência conservadora em relação à produção de suas estruturas reprodutivas. A corola desenvolvida das flores pode ter ajudado a manter a hidratação dos grãos de pólen (GAY *et al.*, 1987; NEPI & PACINI, 1993), e mecanismos fisiológicos vegetais, como o fechamento dos estômatos, podem ter contribuído para a conservação da hidratação dos grãos (PACINI & DOLFERUS, 2019). A tendência conservadora na produção de óvulos também pode ser explicada pela capacidade das plantas de se ajustar a novas condições ambientais e pela adaptação metabólica e do desenvolvimento para mitigar os efeitos do estresse hídrico (KUPPLER & KOTOWSKA, 2021; BLUMWALD & MITTLER, 2017).

4 CONCLUSÃO

Não houve efeito direto dos diferentes cenários de pluviosidade sobre as estruturas portadoras de gametas de *C. pepo*, mas isso não quer dizer que não haja consequências destes novos cenários em sua reprodução, principalmente em cenários de seca extrema, em que há uma diminuição substancial no número de flores produzidas durante a floração. No entanto, *C. pepo* parece apresentar uma tendência altamente conservadora na produção de suas estruturas reprodutivas, mesmo diante da variação na disponibilidade hídrica. Em contraste, outros caracteres relacionados à sua reprodução, como o número de flores, mostraram maior plasticidade.

REFERÊNCIAS

- AKAMINE, E. K.; GIROLAMI, G. Pollination and fruit set in the yellow passion fruit. Technical Bulletin - Hawaii Agricultural Experiment Station, Honolulu, v. 39, p. 3–44, 1959.
- AQUINO, F. C. F. Necessidade hídrica e adubação potássica no cultivo da abobrinha em ambiente protegido. Monografia, 2019.
- BALAKHNINA, T. I.; MATICHENKOV, V. V.; WLODARCZYK, T.; BORKOWSKA, A.; NOSALEWICZ, M.; FOMINA, I. R. Effects of silicon on growth processes and adaptive potential of barley plants under optimal soil watering and flooding. *Plant Growth Regulation*, v. 67, n. 1, p. 35-43, 2012.
- BAPTISTA, C. F. Polinização de *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) por *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em cultivo protegido. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2016.
- BLUMWALD, E.; MITTLER, R. Estresse abiótico. Em: TAIZ, L. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Porto Alegre: Editora Artmed, 6. ed., p. 731-759, 2017.
- BURKLE, L. A.; RUNYON, J. B. Drought and leaf herbivory influence floral volatiles and pollinator attraction. *Global Change Biology*, Hoboken, v. 22, n. 4, p. 1644-1654, 2016.
- CARIVEAU, D.; IRWIN, R. E.; BRODY, A. K.; GARCIA-MAYEYA, L. S.; VON DER OHE, A. Direct and indirect effects of pollinators and seed predators to selection on plant and floral traits. *Oikos*, Malden, v. 104, n. 1, p. 15-26, 2004.
- DESCAMPS, C.; MARÉE, S.; HUGON, S.; QUINET, M.; JACQUEMART, A. L. Species-

specific responses to combined water stress and increasing temperatures in two bee-pollinated congeners (*Echium*, Boraginaceae). *Ecology and Evolution*, Hoboken, v. 10, n. 13, p. 6549-6561, 2020.

DESCAMPS, C.; QUINET, M.; BAIJOT, A.; JACQUEMART, A. L. Temperature and water stress affect plant–pollinator interactions in *Borago officinalis* (Boraginaceae). *Ecology and Evolution*, Hoboken, v. 8, n. 6, p. 3443-3456, 2018.

DMITRUK, M.; WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E. The morphology and ultrastructure of the nectaries of marrow (*Cucurbita pepo* L. convar. *giromontiina*). *Acta Agrobotanica*, Varsóvia, v. 66, n. 3, p. 11–22, 2013.

EISIKOWITCH, D.; WOODSELL, S. R. J. Some aspects of pollination ecology of *Armeria maritima* (Mill.) Willd. in Britain. *New Phytologist*, Oxford, v. 74, p. 307–322, 1975.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura. 2. ed. Viçosa-MG: Editora UFV, 2003. FRIGERO, M. L. P.; BALDUINO, H. K.; LEITE, K. M.; TUNES, P.; BOARO, C. S. F.; MACHADO, S. R.; GUIMARÃES, E. Nectary size and nectar production in pistillate and staminate flowers of *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, Jaipur, v. 14, n. 1, p. 23, 2022.

GAY, G.; KERHOAS, C.; DUMAS, C. Quality of a stress-sensitive *Cucurbita pepo* L. pollen. *Planta*, Berlin, v. 171, p. 82-87, 1987.

GLENNY, W. R.; RUNYON, J. B.; BURKLE, L. A. Drought and increased CO₂ alter floral visual and olfactory traits with context-dependent effects on pollinator visitation. *New Phytologist*, Oxford, v. 220, n. 3, p. 785-798, 2018.

GRASSINI, P.; INDACO, G. V.; PEREIRA, M. L.; HALL, A. J.; TRÁPANI, N. Responses to short-term waterlogging during grain filling in sunflower. *Field Crops Research*, v. 101, n. 3, p. 352-363, 2007.

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.l>. Acesso em: 17 jun. 2022.

IPCC. *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. (eds.)]. Cambridge: Cambridge University Press, 2021. doi:10.1017/9781009157896

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. *Techniques for pollination biologists*. Boulder: University Press of Colorado, 1993.

KUPPLER, J.; KOTOWSKA, M. M. A meta-analysis of responses in floral traits and flower–visitor interactions to water deficit. *Global Change Biology*, Hoboken, 2021.

LEMOINE, R.; CAMERA, S. L.; ATANASSOVA, R.; DÉDALDÉCHAMP, F.; ALLARIO, T.; POURTAU, N.; BONNEMAIN, J. L.; LALOI, M.; COUTOS-THÉVENOT, P.; MAUROSSET, L.; FACUHER, M.; GIROUSSE, C.; LEMONNIER, L.; PARRILLA, J.; DURAND, M. Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 4, p. 272, 2013.

MANTOVANI, E. C.; BERNARDO, S.; PALARETTI, L. F. Irrigação, princípios e métodos. Viçosa-MG: Editora UFV, 3. ed., p. 355, 2009.

MESIHOVIC, A.; IANNAcone, R.; FIRON, N.; FRAGKOSTEFANAKIS, S. Heat stress regimes for the investigation of pollen thermotolerance in crop plants. *Plant Reproduction*, Cham, v. 29, p. 93–105, 2016.

NEPI, M.; GUARNIERI, M.; PACINI, E. Nectar secretion, reabsorption and sugar composition in male and female flowers of *Cucurbita pepo*. *International Journal of Plant Sciences*, Chicago, v. 162, p. 353–358, 2001.

NEPI, M.; PACINI, E. Pollination, pollen viability and pistil receptivity in *Cucurbita pepo*. *Annals of Botany*, Oxford, v. 72, n. 6, p. 527-536, 1993.

PACINI, E.; DOLFERUS, R. Pollen Developmental Arrest: Maintaining Pollen Fertility in a World With a Changing Climate. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 10, p. 679, 2019.

PASSARELLI, L. Importancia de *Apis mellifera* L. en la producción de *Cucurbita maxima* Duch. (Zapallito de tronco). *Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetales*, Madrid, v. 17, n. 1, p. 5-14, 2002.

RAPOPORT, H. F.; PÉREZ-LÓPEZ, D.; CENTENO, A.; VEGA MACÍAS, V.; HIDALGO MOYA, J. J.; HIDALGO MOYA, J. C. Floral developmental failures and ovary size variability in field-grown olive trees under water deficit. IX International Symposium on Irrigation of Horticultural Crops, Bolonha, 2019.

SERRA, B. D.; CAMPOS, L. A. D. O. Polinização entomófila de abobrinha, *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 39, p. 153-159, 2010.

SHIMONO, H.; KONNO, T.; SAKAI, H.; SAMESHIMA, R. Interactive effects of elevated atmospheric CO₂ and waterlogging on vegetative growth of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Plant Production Science*, v. 15, n. 3, p. 238-245, 2012.

SUN, J.; GONG, Y.; RENNER, S. S.; HUANG, S. Multifunctional bracts in the Dove Tree *Davidia involucrata* (Nyssaceae: Cornales): rain protection and pollinator attraction. *The American Naturalist*, Chicago, v. 171, p. 119–124, 2008.

TOREZANI, K. R. DE S. *Polinização da aboboreira (Cucurbita pepo L.): um estudo sobre a comunidade de abelhas em sistemas orgânicos e convencionais de produção no Distrito Federal*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2015. p. 65

WILSON RANKIN, E. E.; BARNEY, S. K.; LOZANO, G. E. Reduced water negatively impacts social bee survival and productivity via shifts in floral nutrition. *Journal of Insect*

Science, Oxford, v. 20, n. 5, p. 15, 2020.