

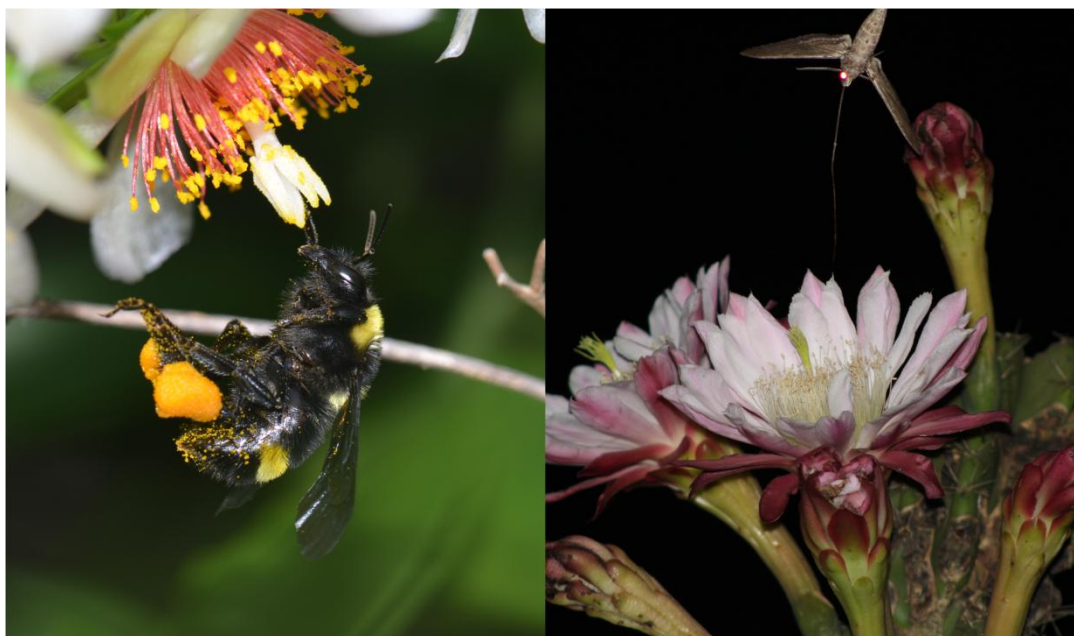
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

POLINIZAÇÃO E BIOLOGIA REPRODUTIVA EM *Cereus hildmannianus* K. Schum. E

Pereskia aculeata Mill. (CACTACEAE)



RAFAEL BECKER

Orientador: Dr. Rodrigo Bustos Singer (UFRGS)

Coorientadora: Dr^a. Rosana Farias Singer (Jardim Botânico de Porto Alegre)

Porto Alegre, RS

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

POLINIZAÇÃO E BIOLOGIA REPRODUTIVA EM *Cereus hildmannianus* K. Schum E
Pereskia aculeata Mill. (CACTACEAE)

Autor: Rafael Becker

Orientador: Dr. Rodrigo Bustos Singer

Coorientadora: Dr^a. Rosana Farias Singer

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Botânica.

Porto Alegre, RS

2020

RAFAEL BECKER

POLINIZAÇÃO E BIOLOGIA REPRODUTIVA EM *Cereus hildmannianus* K. Schum E
Pereskia aculeata Mill. (CACTACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Botânica da
Universidade Federal do Rio Grande do
Sul, como requisito parcial para obtenção
do título de Mestre em Botânica.

Dr. Rodrigo Bustos Singer (orientador)

Dr^a Mara Rejane Ritter

Dr^a Loreta Brandão de Freitas

Dr. Cristiano Roberto Buzatto

Porto Alegre, RS

2020

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Rodrigo Bustos Singer, por todo apoio, conselhos, ajuda em campo, correções e pela impecável orientação durante os últimos dois anos;

À minha coorientadora, Dr^a. Rosana Farias Singer, e ao Leandro Dal Ri, por me receberam no Banco de Sementes do Jardim Botânico de Porto Alegre e por todos os ensinamentos;

Ao meu colega de laboratório e de campo, Oscar Perdomo, pelos debates, troca de conhecimentos, cafés e madrugadas em campo;

À Sr^a Rafaela e ao Dr. Luiz Alberto Ribeiro, por autorizarem a realização dos estudos de campo em suas respectivas propriedades em Caçapava do Sul e São Francisco de Assis;

À Maria Carmen Bastos, gestora da Reserva Biológica do Lami José Lutzenberger, e todos os funcionários da reserva, por me receberem e autorizarem o estudo na unidade de conservação;

À Dr^a Sidia Witter, ao Dr^o Luciano Moura e ao Dr^o Amábilio de Camargo pela identificação das abelhas, coleópteros e lepidópteros, respectivamente, e pelas dicas e ensinamentos sobre entomologia e manipulação de insetos;

Aos colegas do PPG Botânica UFRGS pelas trocas de conhecimento e momentos de descontração;

Aos demais professores e funcionários do PPG Botânica UFRGS, por agregarem e ajudar a manter os ambientes de aula e laboratórios saudáveis e enriquecedores;

Aos membros da comissão examinadora, por aceitarem o convite e pelas sugestões que irão enriquecer este trabalho;

À Letícia Naitzel, pela grande ajuda em campo, conversas e companheirismo que me ajudaram a não perder o foco e seguir em frente;

Aos meus pais, Carlos e Susete Becker, que com todo tipo de apoio me proporcionam o privilégio de cursar uma pós-graduação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa concedida.

RESUMO

Cactaceae é um grupo endêmico do continente americano e adaptado a ambientes áridos e semiáridos, porém pode ocorrer em diversas formações naturais devido à sua variada diversidade morfológica. Tal diversidade morfológica se reflete em diferentes estratégias reprodutivas e de atração dos polinizadores. *Cereus hildmannianus* K. Schum. e *Pereskia aculeata* Mill. são os representantes mais comuns de suas respectivas tribos na flora do Rio Grande do Sul. Ambas as espécies apresentam potencial econômico subestimado, podendo ser facilmente cultivadas já que possuem propriedades alimentícias, medicinais e ornamentais. O cultivo de espécies nativas da flora requer um maior entendimento das estratégias reprodutivas e interações interespecíficas de polinização nas quais estas plantas estão envolvidas. *Cereus hildmannianus* é um cacto colunar de hábito arborescente que possui antese noturna e é dependente da polinização exclusiva de mariposas da família Sphingidae, que promovem a xenogamia, sendo praticamente autoincompatível. Testes de germinação mostraram que as sementes de *Cereus hildmannianus* têm como temperatura ótima de germinação 25° C, na qual demonstra maior índice de germinabilidade e menor sincronia. Já *Pereskia aculeata* é uma espécie cedodivergente dentro de Cactaceae, apresentando a morfologia e a fisiologia de caráter plesiomórfico. As flores são diurnas e a espécie é autocompatível, apresentando algum grau de incompatibilidade xenogâmica entre morfotipos diferentes. É polinizador-dependente e atrai majoritariamente abelhas nativas da tribo Meliponini, podendo também ser polinizada por outros grupos de abelhas, coleópteros e vespas que se alimentam ou coletam o pólen, evidenciando uma especialização ecológica.

Palavras-chave: Cactaceae; polinização; sistema reprodutivo; *Cereus hildmannianus*; *Pereskia aculeata*.

ABSTRACT

Cactaceae is an American endemic plant group adapted to arid and semiarid conditions, but also can occur in other natural formations due to its morphological diversity. This morphological diversity reflects in different breeding strategies and pollinator attraction. *Cereus hildmannianus* K. Schum. and *Pereskia aculeata* Mill. are the only representative species of their respective tribes in Rio Grande do Sul flora. Both species show an underestimated economic potential and can be easily cultivated since they have nutritional and medicinal properties. The cultivation of native species requires a better understanding of breeding strategies and interspecific interactions with pollinators in which these plants are involved. *Cereus hildmannianus* is a tree-like columnar cactus with nocturnal anthesis and depends exclusively on hawkmoth pollination, that promotes cross-pollination, being predominantly self-incompatible. Germination tests show *C. hildmannianus* seeds have optimum temperature at 25° C, which germinability index is higher and synchronization is lower. And *Pereskia aculeata* is an early divergent species in Cactaceae, showing morphological and physiological plesiomorphic features. Its flowers have diurnal anthesis and are self-compatible, but showing partially xenogamic incompatibility between different morphotypes. It is pollinator-dependent and attracts mainly Meliponini tribe native bees, but also can be pollinated by other bee groups, as well as beetles and wasps that feed or collect pollen, evidencing an ecological specialization.

Key words: Cactaceae; pollination; breeding system; *Cereus hildmannianus*; *Pereskia aculeata*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Cactaceae.....	12
1.2 Polinização	13
1.3 Sistema reprodutivo	15
1.4 Germinação	16
1.5 Objetivos	17
1.6 Referências bibliográficas	18
2. Capítulo 1 – BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE <i>Pereskia aculeata</i> MILL. (CACTACEAE)	23
2.1 Introdução.....	23
2.2 Metodologia.....	24
2.3 Resultados	26
2.4 Discussão.....	29
2.5 Conclusão	33
2.6 Referências bibliográficas	34
3. Capítulo 2 – BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE <i>Cereus hildmannianus</i> K. SCHUM. (CACTACEAE)	37
3.1 Introdução.....	37
3.2 Metodologia.....	40
3.3 Resultados	42
3.4 Discussão.....	45
3.5 Conclusão	49
3.6 Referências bibliográficas	49

4. Capítulo 3 – INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Cereus hildmannianus</i> K. SCHUM. (CACTACEAE) EM DIFERENTES POPULAÇÕES DO RIO GRANDE DO SUL (BRASIL)	53
4.1 Abstract	53
4.2 Introduction	54
4.3 Methods.....	56
4.4 Results	57
4.5 Discussion	59
4.6 Conclusion.....	62
4.7 Acknowledgments	62
4.8 References	62
5. Considerações finais.....	67

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE *Pereskia aculeata* MILL. (CACTACEAE)

- FIGURA 1: Morfotipos de *Pereskia aculeata*. Brácteas maiores e elípticas pertencem ao morfotipo de estames amarelos, enquanto brácteas menores e lineares pertencem ao morfotipo de estames avermelhados. Escala: 1 mm.....26
- FIGURA 2: Frequência absoluta de interações dos visitantes florais conforme o horário da antese. Mesmas cores representam uma mesma espécie.....27
- FIGURA 3: Diversidade de polinizadores efetivos de *Pereskia aculeata* observados no Jardim Botânico de Porto Alegre. A: *Trigona spinipes*; B: *Plebeya droryana*; C: *Scaptotrigona bipunctata*; D: *Apis mellifera*; E: *Bombus morio*; F: *Bombus pauloensis*; G: *Xylocopa frontalis*; H: *Caryedes sp.*; I: *Polybia sp.*; J: Halictidae; K: *Aellopus sp.*; L: *Urbanus sp.*.....30
- FIGURA 4: Detalhe da variação morfológica da corbícula, localizada na tíbia do terceiro par de patas em *Scaptotrigona bipunctata* (A) e *Trigona spinipes* (B). Escala: 1 mm.....32

CAPÍTULO 2 – BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE *Cereus hildmannianus* K. SCHUM. (CACTACEAE)

- FIGURA 1: Mapa com a localização das populações de *Cereus hildmannianus* contempladas nas observações de polinizadores e visitantes florais.....40
- FIGURA 2: Corte longitudinal da flor de *Cereus hildmannianus*, mostrando o ovário (Ov) e a câmara nectarífera (CN). Escala: 1cm.....43
- FIGURA 3: Mariposas Sphingidea polinizadoras das flores de *Cereus hildmannianus*. Da esquerda para a direita: *Agrius cingulata*, *Maduca sexta* e *Eumorpha vitis*. Escala: 1 cm.....44
- FIGURA 4: Gráfico de frequência absoluta de interações de mariposas Sphingidea em flores de *Cereus hildmannianus*.....44

FIGURA 5: Mariposas Sphingidae durante interação de polinização com flores de *Cereus hildmannianus* em Caçapava do Sul-RS. A: *Agrius cingulata*; B: *Eumorpha vitis*; C: *Manduca sexta*.....46

FIGURA 6: Precipitação acumulada (mm) registrada em Porto Alegre entre dezembro de 2019 e janeiro de 2020 (INMET, 2020). Destacado em vermelho o período de observação de polinizadores na Reserva Biológica Lami José Lutzenberger. A data 26.01.2020 está em destaque como único registro de atividade dos esfingídeos.....47

CAPÍTULO 3 – INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Cereus hildmannianus* K. SCHUM. (CACTACEAE) EM DIFERENTES POPULAÇÕES DO RIO GRANDE DO SUL.

FIGURA 1: *Cereus hildmannianus* ripe fruit (A); Transversal cut of *Cereus hildmannianus* ripe fruit (B). Scale: 1 cm.....55

FIGURA 2: *Cereus hildmannianus* seed germination stages. A: seed general aspect; B: day 4 – emission of hypocotyl-root axis; C: day 10 – chlorophyll seedling; D: day 20 – establish seedling with areole and spines. Subtitles: HM (micropilar hilum); H (hilum); Te (testa); Hyp (hypocotyl); PR (primordial root); Cot (cotyledon); Ep (epicotyl); Rad (rootlet); Ar (areole); Sp (spine). Scale: 1mm.....56

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE *Pereskia aculeata* MILL. (CACTACEAE)

Tabela 1: Tempo médio de interação com desvio padrão de cada visitante floral de *Pereskia aculeata*.....27

Tabela 2: Experimento de sistema reprodutivo em *Pereskia aculeata*. A: morfotipo amarelo; V: morfotipo vermelho; N: número de indivíduos. Valores entre parênteses representam o número de frutos obtidos sobre número total de flores testadas.....28

CAPÍTULO 2 – BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE *Cereus hildmannianus* K. SCHUM. (CACTACEAE)

Tabela 1: Experimento de sistema reprodutivo em *Cereus hildmannianus*. Valores entre parênteses representam a quantidade de frutos formados sobre o número de flores tratadas. N: número de indivíduos que receberam o tratamento.....42

Tabela 2: Comprimento e diâmetro do perigônio de flores de *Cereus hildmannianus* das três populações estudadas. Asteriscos representam valores significativamente diferentes dos demais na mesma coluna. *Valor-p = 0,0001; **Valor-p = 0,006.....42

CAPÍTULO 3: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Cereus hildmannianus* K. SCHUM. (CACTACEAE) EM DIFERENTES POPULAÇÕES DO RIO GRANDE DO SUL.

TABELA 1: ANOVA of average germination time (T), germinability (G) and synchronization (S) values of seeds collected in Porto Alegre, Santiago and Caçapava do Sul.....56

TABELA 2: Mean average germination time (T), germinability (G) and synchronizarion (S) values of seeds collected in Porto Alegre, Santiago and Caçapava do Sul at room temperature, 20° C, 25° C and 30° C. Values with the same letter in a single column do not statistically in the Tukey's test at 5%.....57

1. INTRODUÇÃO

1.1 Cactaceae

Cactaceae é um grupo de plantas que em sua maioria é facilmente reconhecida por apresentar características altamente diagnósticas. Tais características são adaptações desenvolvidas pelo grupo para reduzir a perda de água a fim de sobreviver em ambientes secos e áridos, aos quais os cactos são comumente associados. Dentre essas características, as principais sinapomorfias do grupo são a modificação dos meristemas axilares em estruturas chamadas aréolas, a redução de folhas em espinhos (para diminuir a área do limbo foliar e reduzir a evapotranspiração), o embrião curvado e o endosperma ausente. As flores dos cactos apresentam inúmeras tépalas dispostas em espiral. Geralmente são grandes e muito vistosas, porém raramente duram mais do que um dia (Carneiro *et al.*, 2016).

A família inclui 1450 espécies, divididas em 128 gêneros (Hunt *et al.*, 2006). O grupo ocorre exclusivamente nas Américas, com exceção de uma única espécie, *Rhipsalis baccifera* (J. S. Muell) Stearn, que ocorre naturalmente na África e no Sri Lanka (Barthlott & Taylor, 1995). Através de estudos morfológicos e moleculares, Cactaceae é reconhecidamente dividida em cinco subfamílias: Leuenbergioideae, Pereskioideae, Opuntioideae, Cactoideae e Maihuenioideae (Wallace 1995; Metzling & Kiesling, 2008; Hernández-Hernández *et al.*, 2014).

Os principais centros de distribuição são, de fato, as regiões áridas: México e sudeste dos Estados Unidos, região andina e o nordeste do Brasil (Nyfeller, 2002), em ordem de importância. Contudo, os cactos também ocorrem em regiões mais úmidas, como florestas e litoral, onde desempenham um importante papel devido às numerosas interações biológicas estabelecidas com outros organismos (Ortega-baes & Godinez-Alvarez, 2006). Cactoideae, devido à sua grande diversidade de formas e hábitos, é largamente distribuída pelas Américas, assim como Opuntioideae. Pereskioideae e Leuenbergioideae, antes unidas em uma única subfamília, ocorrem mais comumente em florestas úmidas da América do Sul e Central, respectivamente. Maihuenioideae é um grupo pequeno, ocorrendo endemicamente no sul da Patagônia (Stevens, 2001).

No Brasil, ocorrem 39 gêneros e 261 espécies (Flora do Brasil, 2020), sendo que o principal *hotspot* de biodiversidade da família é na Caatinga baiana, seguido da região costeira entre os Estados do Rio de Janeiro e São Paulo (Zappi *et al.*, 2011). O Estado do Rio

Grande do Sul é o terceiro ponto de diversidade do Brasil, onde já foram catalogados 11 gêneros e 65 espécies, representando aproximadamente 30% da riqueza específica do país (Carneiro *et al.*, 2016). Como as cactáceas ocorrem em todos os tipos de ambientes no Rio Grande do Sul, porém com distribuição restrita das espécies, o endemismo acaba se tornando uma característica marcante da família para a região, tendo ocorrência de 18 espécies endêmicas (Carneiro *et al.*, 2016), somando-se ambos biomas Pampa e Mata Atlântica.

Pouco se conhece acerca da biologia reprodutiva de Cactaceae no geral, e os estudos dessa área envolvendo as espécies do Rio Grande do Sul são praticamente inexistentes. Neste trabalho, focaremos na descrição da biologia reprodutiva e de polinização de duas espécies do Rio Grande do Sul: *Cereus hildmannianus* K. Schum. e *Pereskia aculeata* Mill., únicas representantes de suas respectivas tribos no Estado.

1.2 Polinização

A polinização é uma relação ecológica interespecífica na qual as plantas, através de fatores bióticos e abióticos, conseguem transportar seus gametas até outro indivíduo. O primeiro relato de um processo de polinização é de Heródoto, historiador turco do século IV a.C., que descreve uma cerimônia religiosa dos assírios onde o sacerdote coloca manualmente estames das flores masculinas de uma palmeira em contato com as flores femininas, abençoando a futura colheita (Maheshwari, 1950 apud Rech *et al.*, 2014). Porém, apenas séculos mais tarde, a polinização foi cientificamente investigada. O processo de reprodução das angiospermas foi uma peça chave nas pesquisas de Charles Darwin, que estudando orquídeas produziu trabalhos sobre biologia floral (Darwin, 1862; 1876; 1877), os quais serviram como parte da base para sua teoria da seleção natural e para toda uma linha de pesquisa futura, além de terem sido estudos pioneiros na área da biologia floral e suas interações ecológicas.

Um dos principais conceitos que permeiam os estudos de polinização é o da síndrome de polinização. Popularizado por Faegri & Van der Pijl (1979), esse conceito basicamente infere que as características morfológicas da flor foram selecionadas evolutivamente para dispersar o pólen através de vetores específicos. Com isso, a combinação do formato e da cor do perianto, a composição do néctar e dos odores, a presença de elaióforos, entre outras estruturas, ajudam-nos a prever se a flor é zoófila e qual grupo animal predomina no transporte polínico.

No caso das cactáceas, as espécies são todas zoófilas, ou seja, possuem polinização mediada por vetores animais (Hunt & Taylor, 1990). Por ter uma ampla variedade morfológica, as diferentes espécies de cactos atraem invertebrados como abelhas, vespas, borboletas, mariposas e besouros, até vertebrados como beija-flores e morcegos. Cactos colunares geralmente apresentam flores brancas com antese noturna e alta produção de néctar, ideais para visitas de mariposas e morcegos. As abelhas são mais comuns em todas as espécies de Pereskioideae, com exceção de *Pereskia stenantha* F. Ritter, que é a única do gênero a apresentar corola urseolada e larga produção de néctar, indicando uma síndrome de polinização por beija-flores (Butterworth & Wallace, 2005). Opuntioideae e espécies globosas de Cactoideae, que possuem flores claras ou amareladas e com antese diurna, também possuem síndrome melitófila (polinização por abelhas).

Ainda que muitos estudos utilizem o poder preditivo da síndrome para análises filogenéticas, somente com as observações em campo podemos realmente comprovar qual tipo de vetor poliniza as plantas. Pelo menos 417 espécies de angiospermas já foram estudadas quanto a sua biologia da polinização (Rosas-Guerrero *et al.*, 2014), e entre elas menos de 5% das quase 2000 espécies de cactos possuem algum tipo de estudo voltado à biologia floral (Mandujano *et al.*, 2010). Para a tribo Cereeae, até o momento já foram estudadas *Cereus peruvianus* (L.) Mill. (Silva & Sazima, 1995), *Cereus fernambucensis* Lem. (Locatelli & Machado, 1999), *Melocactus curvispinus* Pfeiff. (Nassar & Ramírez, 2004), *Micranthocereus flaviflorus* Buining & Brederoo, *Micranthocereus streckeri* Van Heek & Van Criel. e *Micranthocereus purpureus* (Gurke) F. Ritter. (Aona *et al.* 2006), *Praecereus euchlorus* N.P. Taylor (Moraes *et al.*, 2005), *Pilosocereus catingicola* (Gurke) Byles & G.D. Rowley (Locatelli *et al.* 1997), *Pilosocereus moritzianus* (Otto) Byles & G.D. Rowley, *Pilosocereus repandus* (L.) Mill. (Nassar *et al.*, 1997), *Pilosocereus lanuginosus* (L.) Byles & G.D. Rowley (Nassar *et al.*, 2003), *Pilosocereus vilaboensis* P.J.Braun (Moraes *et al.*, 2005), *Pilosocereus royenii* (L.) Byles & G. D. Rowley (Rivera-Marchand & Ackerman, 2006) , *Pilosocereus tuberculatus* (Werderm.) Byles & G.D. Rowley (Rocha *et al.*, 2007), *Pilosocereus leucocephalus* (Poselger) Byles & G. D. Rowley (Munguia-Rosas *et al.*, 2009). Todas apresentaram polinização por morcegos e/ou mariposas, com exceção das espécies de *Melocactus* e *Micranthocereus*, que, por possuírem antese diurna, mostraram ter a polinização realizada por beija-flores. Em Pereskioideae, o único trabalho de biologia da polinização é com *Pereskia guamacho* F.A.C. Weber (Nassar *et al.*, 2002), a qual é melitófila.

Este levantamento mostra como esse campo de estudo ainda possui muitas lacunas de conhecimento a serem preenchidas, já que são questões acerca da biologia reprodutiva de espécies ainda com muitos problemas taxonômicos e em grande parte necessitando de novas estratégias conservacionistas devido ao risco em que muitas se encontram.

1.3 Sistema reprodutivo

Como citado anteriormente, as plantas são organismos sésseis e dependem de vetores abióticos ou bióticos, através da polinização, para promover a troca de gametas. Contudo, esse mecanismo impossibilita que as plantas selecionem seus parceiros sexuais, fazendo com que a reprodução sexuada de sucesso dependa da qualidade do pólen que chega ao estigma. Com isso, as espécies precisaram desenvolver estratégias que dão mais condições à planta para que ela selecione os gametas ideais para a reprodução. Entretanto, a evolução levou à formação de diversas morfologias florais, em que a seleção pode ocorrer por tempo, por espaço ou por reconhecimento físico-químico (Rech *et al.*, 2014).

Espécies com flores dióicas (indivíduos cujas flores apresentam apenas um tipo de verticilo reprodutivo presente ou funcional) necessariamente vão promover o fluxo gênico cruzado em qualquer evento de polinização. Dessa forma, vetores mais generalistas guiam a evolução da dioicia nessas espécies, porém, em contrapartida, a ausência dos polinizadores poderia comprometer o sucesso reprodutivo dessas populações (Rech *et al.*, 2014).

A autopolinização, sistema no qual a flor é receptiva do pólen dela própria, é um processo observado em espécies com flores perfeitas, tal qual a geitonogamia, processo em que ocorre a polinização entre flores do mesmo indivíduo. Apesar de serem processos endogâmicos e não maximizarem o fluxo gênico, essas estratégias são adotadas por plantas que precisam manter suas características fisiológicas e morfológicas, evitando qualquer tipo de variabilidade como, por exemplo, as espécies adaptadas a ambientes extremos (Jain, 1976). A cleistogamia é um extremo da autopolinização, em que o perianto não abre totalmente, aumentando as chances de ocorrer autopolinização por contato direto das peças férteis.

Contudo, muitas espécies com flores hermafroditas desenvolveram mecanismos para promover a polinização cruzada em detrimento da autopolinização. Em Angiospermae, o fechamento dos óvulos dentro do carpelo permitiu que o indivíduo conseguisse promover ou inibir o crescimento do tubo polínico, selecionando gametas de maior interesse e evitando a autopolinização, viabilizando assim a diversidade genética na população. Esse é sistema de incompatibilidade, que foi cunhado pela primeira vez por Stout (1917). O processo ocorre

devido à presença de um único gene com vários alelos não-dominantes (Gibbs, 1990). Através do reconhecimento químico de substâncias expressas por esse gene, a reação de incompatibilidade acontece no caso de o pólen apresentar alelos iguais ao do gineceu, e a formação de deposições irregulares de calose ao longo do estilete rompe o crescimento do tubo polínico de forma precoce (Oliveira & Gibbs, 1994). Contudo, diferentes populações da mesma espécie podem apresentar graus de incompatibilidade diferentes, variando desde estritamente até parcialmente autoincompatível (Ferrer & Good-Avila, 2007). Em cactos, levantamentos sugerem a existência de algum nível de autoincompatibilidade em pelo menos 28 gêneros (Boyle, 1997).

Pelo menos 20 espécies de cactáceas apresentam algum tipo de sistema de reprodução onde o gineceu ou o androceu são morfologicamente ou funcionalmente não funcionais (Mandujano *et al.* 2010), porém a predominância é de gêneros com os verticilos completamente funcionais. Ainda segundo Mandujano *et al.* (2010), Pereskioideae é uma subfamília que tende à autoincompatibilidade, enquanto a tribo Cereeae apresenta um misto de estratégias, com maior tendência geral à autogamia, mas as espécies arbóreas tendendo à xenogamia restrita. Em seu levantamento, foram constatados trabalhos com 50 espécies de cactos, das quais 26 mostraram autoincompatibilidade.

1.4 Germinação

Outro atributo analisado em estudos de biologia reprodutiva são os mecanismos germinativos. As sementes de Cactaceae possuem variadas formas, geralmente com o tegumento ornamentado com alto valor taxonômico, ou morfologias únicas como, por exemplo, a presença do arilo ósseo, uma sinapomorfia da subfamília Opuntioideae (Buxbaum, 1951). A quantidade de sementes produzida por fruto varia entre espécies. Algumas espécies de *Pereskia* produzem no máximo cinco sementes, enquanto em *Epiphyllum angulier* (Lem.) G. Don. o número de sementes chega a 5500 (Zimmer & Buttner, 1982). Ainda assim, mesmo em nível de espécies, populações podem apresentar grandes variações na quantidade de sementes por fruto (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes, 2000).

A variante mais analisada em estudos de germinação é a temperatura, responsável por acelerar ou inibir o processo enzimático da quebra de dormência e desenvolvimento do embrião (Labouriau, 1983). Como os cactos possuem uma larga distribuição, em que diferentes espécies são encontradas em ambientes com temperaturas muito variadas, é esperada a existência de temperaturas ótimas dependendo da espécie. Um levantamento de

Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000) mostra que há essa variação, mas com uma tendência entre 25° C e 30° C como temperatura ideal para o desenvolvimento das plântulas.

Para a tribo Cereeae, já foram realizados estudos de germinação com sementes de *Cereus jamacaru* DC. (Meiado *et al.* 2010), *Cereus fernambucensis* Lem. (Socolowski *et al.*, 2010), *Pilosocereus aurisetus* (Werderm.) Byles & G.D. Rowley (Reis *et al.*, 2012) e *Melocactus sergipensis* N. P. Taylor (Filho *et al.*, 2019). Souza *et al.* (2016) descreveram como a temperatura afeta a germinação em *Pereskia aculeata* Mill. e *Pereskia grandifolia* Haw.. Diferentemente dos estudos envolvendo a biologia reprodutiva e a polinização dos cactos, o conhecimento produzido sobre a germinação é bastante vasto. Ainda assim, há uma defasagem quanto ao conhecimento acerca das espécies ocorrentes no Rio Grande do Sul.

1.5 Objetivos

Cereus hildmannianus e *Pereskia aculeata* são espécies nativas e com potenciais usos de interesse econômico. O gerenciamento dessas espécies, tanto para o viés econômico quanto para o viés conservacionista, passa pelo melhor entendimento de suas biologias reprodutivas, estratégias de polinização e perfil germinativo. A espécie *C. hildmannianus* possui pouquíssimas citações na literatura de usos, e, comparada às outras espécies da tribo Cereeae largamente utilizadas, é possível que seu potencial para produção alimentícia esteja subestimado e visivelmente pouco investigado. Por outro lado, *P. aculeata* já demonstra uso consolidado nas regiões em que ocorre, porém pouco se sabe sobre suas relações ecológicas de interações com animais que visitam suas flores.

Portanto, o objetivo do presente estudo é documentar os processos responsáveis pela reprodução de ambas as espécies botânicas, descrevendo seus sistemas reprodutivos e interações com visitantes florais. Os objetivos específicos são:

- Compor um acervo de imagens e filmes dos visitantes florais e polinizadores de *Cereus hildmannianus* e *Pereskia aculeata*;
- Identificar quais espécies de visitantes florais necessariamente promovem a polinização e se suas condutas afetam a frutificação;
- Comparar a diversidade de polinizadores entre diferentes populações de *Cereus hildmannianus*;
- Identificar qual o tipo de sistema reprodutivo das espécies botânicas, definindo através de tratamentos controlados se elas são polinizador-dependentes e/ou autocompatíveis;

- Mensurar qual a temperatura ideal para germinação de sementes de *Cereus hildmannianus* e identificar qual população apresenta o maior vigor.

Com isso, será possível ter uma nova visão sobre a biologia reprodutiva dessas espécies, contemplando uma lacuna do conhecimento de uma área ainda pouco abordada para Cactaceae no Rio Grande do Sul.

1.6 Referências bibliográficas

AONA, L. Y. S., MACHADO, M., PANSARIN, E. R., DE CASTRO, C. C., ZAPPI, D., & MARIA DO CARMO, E. (2006). Pollination biology of three Brazilian species of *Micranthocereus* Backeb. (Cereae, Cactoideae) endemic to the “campos rupestres”. *Bradleya*, 2006(24), 39-52.

BARTHLOTT, W.; TAYLOR, N. P. (1995) Notes towards a monograph of Rhipsalideae (Cactaceae). *Bradleya*, v. 13, p. 43-79.

BOYLE, T. H. (1997). The genetics of self-incompatibility in the genus *Schlumbergera* (Cactaceae). *Journal of Heredity*, 88(3), 209-214.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção (2020). Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 15 abr. 2020.

BUTTERWORTH, C. A., & WALLACE, R. S. (2005). Molecular phylogenetics of the leafy cactus genus *Pereskia* (Cactaceae). *Systematic Botany*, 30(4), 800-808.

BUXBAUM, F. 1951. Die Phylogenie der nordamerikanischen Echinocacteen. *Osterr. Bot. Zeitschr.* 98: 44-104.

CARNEIRO, A. M.; FARIAS-SINGER, R.; RAMOS, R. A.; NILSON, A. D. (2016) Cactos do Rio Grande do Sul. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 227p.

DARWIN, C. (1862). On the two forms, or dimorphic condition, in the species of *Primula*, and on their remarkable sexual relations. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 6(22), 77-96.

DARWIN, C. (1876). The effects of cross and self fertilization in the vegetable kingdom. London, John Murray, 482p.

- DARWIN, C. (1877). The different forms of flowers on plants of the same species. London, John Murray. Dowrick, 352p.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. (1979). The principles of pollination ecology, 35-45.
- FERRER, M. M., & GOOD-AVILA, S. V. (2007). Macrophylogenetic analyses of the gain and loss of self-incompatibility in the Asteraceae. *New Phytologist*, 173(2), 401-414.
- FILHO, E. S. B. (2019). Propagação e conservação ex situ de *Melocactus sergipensis* (Cactaceae), espécie endêmica e criticamente ameaçada de extinção.
- GIBBS, P.E. (1990). Self-incompatibility in flowering plants: a Neotropical perspective. *Revista Brasileira de Botânica*, 13, 125-136
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, H. M.; DE-NOVA, J. A.; PUENTE, R.; EGUIARTE, L. E. E MAGALLÓN, S. (2011). Phylogenetic relationship and evolution of growth forming Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany* 98(1):44-61.
- HUNT, D., & TAYLOR, N. (1990). The genera of Cactaceae: progress towards consensus. *Bradleya*, 1990(8), 85-106.
- HUNT, D. R.; TAYLOR, N. P.; CHARLES, G. (2006). The new cactus lexicon, atlas of illustrations. Milborn Port, Text. Dh Publications.
- JAIN, S. K. (1976). The evolution of inbreeding in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 7(1), 469-495.
- LABOURIAU, L. G. (1983). A germinação das sementes (No. 581.1 LAB).
- LOCATELLI, E., MACHADO, I. C., & MEDEIROS, P. (1997). Floral biology and bat pollination in *Pilosocereus catingicola* (Cactaceae) in northeastern Brazil. *Bradleya*, 1997(15), 28-34.
- LOCATELLI, E., & MACHADO, I. C. S. (1999). Floral biology of *Cereus fernambucensis*: a sphingophilous cactus of restinga. *Bradleya*, 1999(17), 86-94.
- MAHESHWARI, P. (1950). An introduction to the embryology of angiosperms (No. 582.130433). McGraw-Hill.
- MANDUJANO, M., CARRILLO-ANGELES, I., MARTÍNEZ-PERALTA, C., & GOLUBOV, J. (2010). Reproductive biology of Cactaceae. In *Desert plants* (pp. 197-230). Springer, Berlin, Heidelberg.

- MEIADO, M. V., DE ALBUQUERQUE, L. S. C., ROCHA, E. A., ROJAS-ARÉCHIGA, M. A. R. I. A. N. A., & LEAL, I. R. (2010). Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. *Plant Species Biology*, 25(2), 120-128.
- METZING, D.; AND R. KIESLING (2008). The study of cactus evolution: The pre-DNA era. *Haseltonia* 14: 6 – 25.
- MORAES, E. M., ABREU, A. G., ANDRADE, S. C., SENE, F. M., & SOLFERINI, V. N. (2005). Population genetic structure of two columnar cacti with a patchy distribution in eastern Brazil. *Genetica*, 125(2-3), 311-323.
- MUNGUÍA-ROSAS, M. A., SOSA, V. J., OJEDA, M. M., & DE-NOVA, J. A. (2009). Specialization clines in the pollination systems of agaves (Agavaceae) and columnar cacti (Cactaceae): A phylogenetically controlled meta-analysis. *American Journal of Botany*, 96(10), 1887-1895.
- NASSAR, J. M., RAMÍREZ, N., & LINARES, O. (1997). Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats in their sexual reproduction. *American Journal of Botany*, 84(7), 918-927.
- NASSAR, J. M., HAMRICK, J. L., & FLEMING, T. H. (2002). Allozyme diversity and genetic structure of the leafy cactus (*Pereskia guamacho* [Cactaceae]). *Journal of Heredity*, 93(3), 193-200.
- NASSAR, J. M., HAMRICK, J. L., & FLEMING, T. H. (2003). Population genetic structure of Venezuelan chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae). *American Journal of Botany*, 90(11), 1628-1637.
- NASSAR, J. M., & RAMÍREZ, N. (2004). Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 248(1-4), 31-44.
- NYFFELER, R. (2002). Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/matK and trnL-trnF sequences. *American Journal of Botany*, 89(2), 312-326.
- OLIVEIRA, P.E. & GIBBS, P.E. (1994). Pollination biology and breeding systems of six *Vochysia* species (Vochysiaceae) in Central Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 10, 509-522.
- ORTEGA-BAES, P.; GODÍNEZ-ALVAREZ, H. (2006). Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity & Conservation*, 15(3), 817-827.

- PASA, M. C., SOARES, J. J., & GUARIM NETO, G. (2005). Ethnobotany study in community of Conceição-Açu (on the upper basin of the River Aricá Açu, MT, Brazil). *Acta Botanica Brasilica*, 19(2), 195-207.
- RECH, A. R., AGOSTINI, K., OLIVEIRA, P. E., & MACHADO, I. C. (2014). *Biologia da polinização*. Projecto Cultural.
- REIS, M. V. D., PÊGO, R. G., PAIVA, P. D. D. O., ARTIOLI-COELHO, F. A., & PAIVA, R. (2012). Germinação in vitro e desenvolvimento pós-seminal de plântulas de *Pilosocereus aurisetus* (Werderm.) Byles & GD Rowley (Cactaceae). *Revista Ceres*, 59(6), 739-744.
- RIVERA-MARCHAND, B., & ACKERMAN, J. D. (2006). Bat Pollination Breakdown in the Caribbean Columnar Cactus *Pilosocereus royenii* L. *Biotropica*, 38(5), 635-642.
- ROCHA, E. A., MACHADO, I. C., & ZAPPI, D. C. (2007). Floral biology of *Pilosocereus tuberculatus* (Werderm.) Byles & Rowley: a bat pollinated cactus endemic from the “Caatinga” in northeastern Brazil. *Bradleya*, 2007(25), 129-144.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M., & VÁZQUEZ-YANES, C. (2000). Cactus seed germination: a review. *Journal of arid environments*, 44(1), 85-104.
- ROSAS-GUERRERO, V., AGUILAR, R., MARTÉN-RODRÍGUEZ, S., ASHWORTH, L., LOPEZARAIZA-MIKEL, M., BASTIDA, J. M., & QUESADA, M. (2014). A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators?. *Ecology letters*, 17(3), 388-400.
- SILVA, W. R., & SAZIMA, M. (1995). Hawkmoth pollination in *Cereus peruvianus*, a columnar cactus from southeastern Brazil. *Flora*, 190(4), 339-343.
- SOCOLOWSKI, F., VIEIRA, D. C. M., SIMÃO, E., & TAKAKI, M. (2010). Influence of light and temperature on seed germination of *Cereus fernambucensis* Lemaire (Cactaceae). *Biota Neotropica*, 10(2), 53-56.
- STEVENS, P. F. (2001 onwards). *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 14, July 2017
- STOUT, A. B. (1917). Fertility in *Cichorium intybus*: the sporadic occurrence of self-fertile plants among the progeny of self-sterile plants. *American Journal of Botany*, 4(7), 375-395.
- WALLACE, R. S. (1995b). Molecular systematic study of the Cactaceae: Using chloroplast DNA variation to elucidate cactus phylogeny. *Bradleya* 13:1–12.

TAYLOR, N. P., & ZAPPI, D. C. (1989). An alternative view of generic delimitation and relationships in tribe Cereeae (Cactaceae). *Bradleya*, 1989(7), 13-40.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; SANTOS, M. R. (2011). Conservação das Cactaceae do Brasil. In: Ribeiro-Silva, Zappi, D., Taylor, N., Machado, M. (Orgs.). Plano nacional para conservação das cactáceas. Brasília, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio. (Série espécies ameaçadas nº 24).

ZIMMER, K. & BÜTTNER, P. (1982). Ersatz des lichtbedürfnisses bei der keimung von kakteensamen durch gibberellinsäure *Gartenbauwissenschaft*, 47, pp. 97-101.

2. CAPÍTULO 1 – BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE *Pereskia aculeata* MILL. (CACTACEAE)

2.1 Introdução

A subfamília Pereskioideae está numa posição cedodivergente dentro de Cactaceae, já que apresenta uma série de caracteres plesiomórficos, como aréolas que produzem folhas alternas e pecioladas, metabolismo C3 e ausência de tecidos suculentos (Hernández-Hernández *et al.*, 2011). O grupo é monogenérico, representado apenas por *Pereskia*, o qual compreende 17 espécies distribuídas do Brasil até o México (Hunt & Taylor 2006). Entretanto, algumas revisões propõem que o gênero *Pereskia* seja dividido em duas subfamílias: Pereskioideae, abrangendo espécies da América do Sul, e Leuenbergioideae, abrangendo as espécies da América Central e norte da Colômbia e Venezuela (Steven, 2001; Edwards *et al.* 2005), tratando-se de um gênero parafilético.

No Brasil ocorrem nove espécies (Flora do Brasil, 2020), e apenas *Pereskia aculeata* Mill. pode ser encontrada naturalmente no Rio Grande do Sul (Carneiro *et al.*, 2016). Segundo Flora do Brasil (2020), há uma coleta de *Pereskia nemorosa* Rojas Acosta no Rio Grande do Sul, sendo o único registro da espécie no Brasil, porém não há mais informações sobre a ocorrência da espécie no estado. Popularmente conhecida como ora-pro-nóbis, é uma planta de hábito apoiante que ocorre nas áreas de floresta da Mata Atlântica desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, sendo encontrada em bordas de manchas florestais (Scheinvar, 1985). Possui folhas alternas lanceoladas e pecioladas, característico da subfamília, e as inflorescências apresentam flores de ovário súpero, diferentemente das outras subfamílias que possuem ovário inferior, incluindo Leuenbergioideae (Edwards *et al.*, 2005). As aréolas aparecem no hipanto, de onde partem acúleos (Rosa & Souza, 2003).

A ora-pro-nóbis tem diversos tipos de usos, sendo ornamental, já que produz grandes quantidades de flores vistosas, e é considerada como uma planta alimentícia não-convencional, muito apreciada na culinária de diversas regiões em que ocorre, podendo ser consumidos seus frutos, flores e folhas (Souza, 2009). As folhas possuem alto teor proteico, além de ser uma ótima fonte de ferro e cálcio (Almeida & Cambraia, 1974; Kinupp & Barros, 2007; Carvalho *et al.*, 2014). Também possui propriedades medicinais, em que é possível

extrair arabinogalactano, um biopolímero utilizado pela indústria farmacêutica como suplemento do sistema imunológico (Mercê *et al.*, 2011).

Pereskia é um gênero muito pouco estudado quanto à biologia reprodutiva e de polinização. Nassar *et al.* (2002) relata que *Pereskia guamacho* F.A.C. Weber é autoincompatível e é polinizada por abelhas, porém sem descrever quais espécies entomológicas interagem e qual a conduta desses animais. Como *P. aculeata* possui um grande interesse econômico como alternativa alimentar, a produção dessa espécie se dá predominantemente de forma assexuada, por estaquia, devido à rapidez do processo e à falta de informação sobre a propagação sexuada, a qual tem sua importância para garantia de variedades com características de maior interesse e diversidade genética (Souza, 2016). Com isso, um estudo sobre esses atributos reprodutivos e ecológicos da espécie se faz necessário, para a contribuição no entendimento de melhores formas de propagação de um recurso com potencial econômico e suas relações interespecíficas. Como objetivos específicos, este capítulo busca entender quais tipos de estratégias reprodutivas adotadas por *P. aculeata*, comparando quais atributos destas estratégias divergem das observadas em *P. guamacho* e identificar quais são os vetores de polinização que a planta atrai.

2.2 Metodologia

Área de estudo: o trabalho foi realizado em Porto Alegre, capital do Estado do Rio Grande do Sul, no sul do Brasil. A cidade possui um clima úmido e quente e é localizada na região de influência de três unidades geomorfológicas: o Escudo Sul-riograndense, a Depressão Central e a Planície Costeira (Vieira, 1984). Está classificada no ecótono entre os biomas da Mata Atlântica e Pampa *lato sensu*, sendo considerada uma importante área de transição e de alta biodiversidade (Rambo, 1950). Os indivíduos de *P. aculeata* utilizados nos experimentos e observações estão localizados no Jardim Botânico de Porto Alegre (30°03'13.9"S 51°10'39.4"W), área pertencente à Secretaria Estadual do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul (SEMA-RS), onde são realizadas pesquisas de conservação da flora e fauna gaúcha. A cidade de Porto Alegre fica dentro da área de ocorrência natural da espécie.

Observações em campo: quatro indivíduos de *P. aculeata* foram selecionados para as observações em campo, sendo duas de cada morfótipo: flores de estames amarelos e flores de estames vermelhos. O monitoramento dos polinizadores ocorreu entre os meses de março e maio de 2019, durante o pico de florada da espécie. As observações totalizaram 50 horas de observação, apenas durante o período de antese. A conduta dos polinizadores foi

documentada em vídeo e fotografias, utilizando uma câmera Canon EOS Rebel SL1 com tripé. A diversidade de visitantes florais foi registrada aleatoriamente durante todo período de observação, e um escapo floral com cinco flores foi selecionado para dois indivíduos e filmado durante toda a antese para a contabilização da diversidade de visitantes conforme o horário de interação, número de interações e conduta. Os vídeos foram posteriormente revisados e compilados com o *software* Vegas Pro 15.0, o que permitiu uma análise com maior detalhe das interações, como o tempo de duração das visitas, verticilos florais tocados e frequência de visitas. Através dos vídeos foi possível analisar quais animais necessariamente interagem com gineceu e androceu, sendo classificados, portanto, como polinizadores efetivos. Os animais foram coletados para uma posterior identificação e foram depositados na coleção entomológica do museu da Fundação Estadual de Pesquisas Agrônômicas do Rio Grande do Sul (FEPAGRO).

Sistema reprodutivo: para os testes de sistema reprodutivo, ensacaram-se botões florais antes do início da antese, para isolar qualquer visita de animais que podem carregar o pólen de outras plantas. Iniciada a antese, as flores foram submetidas a um dos seguintes tratamentos: 1) Polinização manual cruzada – o estigma recebeu o pólen proveniente de flores de outro indivíduo. Os cruzamentos manuais foram realizados entre morfotipos iguais e entre morfotipos diferentes; 2) Autopolinização manual – o estigma recebeu pólen proveniente da mesma flor; 3) Emasculação – as anteras foram retiradas com o auxílio de uma tesoura, a fim de se testar a ocorrência de apomixia; 4) Polinização espontânea – a flor foi ensacada sem nenhum tipo de manipulação, a fim de se testar a ocorrência de autopolinização espontânea, ou seja, polinização independente de vetores. Flores não ensacadas foram marcadas sem nenhuma manipulação para avaliação da polinização natural. Foi estipulado o *n* mínimo de 30 flores por tratamento. Após as manipulações, as flores voltaram a ser ensacadas, e a porcentagem de frutificação foi mensurada após o amadurecimento total dos frutos.

Análise do néctar: foram selecionadas cinco flores de cada um dos quatro indivíduos que foram ensacados previamente para isolar os visitantes florais. No início da antese, as flores foram desensacadas para a mensuração do volume de néctar produzido, com o auxílio de uma microseringa, e a concentração de açúcares, com o auxílio de um refratômetro de mão (0-30%). Calculou-se a média e o desvio padrão de cada indivíduo, e os valores foram comparados com análise de variância de fator único.

2.3 Resultados

Pereskia aculeata é uma planta de porte arbustivo e hábito apoiante. Os indivíduos monitorados ocorrem em bordas de matas e apresentavam grande porte, apoiando-se sobre árvores e arbustos próximos. A espécie apresenta folhas verdadeiras pecioladas, de disposição alterna e possui acúleos nos caules. Entre os indivíduos trabalhados neste estudo, foi observada a ocorrência de uma variação morfológica nas flores. Dois indivíduos possuem os filetes dos estames de coloração avermelhada e as brácteas florais de formato lanceolado, enquanto outros dois indivíduos possuem os filetes de coloração amarelada e as brácteas de formato elípticas com margem avermelhada (Figura 1). As partes vegetativas das plantas observadas não mostraram nenhuma variação morfológica.



Figura 1: Morfotipos de *Pereskia aculeata*. Brácteas maiores e elípticas pertencem ao morfotipo de estames amarelos, enquanto brácteas menores e lineares pertencem ao morfotipo de estames avermelhados. Escala: 1 mm.

Foi registrada a presença de nove espécies de polinizadores efetivos. Visitantes florais que tiveram apenas uma única visita durante as observações e que não interagiram com os verticilos sexuais das flores foram desconsiderados na análise. A antese inicia-se às 6h da manhã e a flor se mantém aberta até às 13h, porém as visitas tornam-se raras ou inexistentes a partir das 12h. Dentro desse período, foram registradas 246 interações em um escapo floral com cinco flores. Aproximadamente 66% das interações foram mediadas por abelhas nativas da tribo Meliponini: *Trigona spinipes* (73), *Scaptotrigona bipunctata* (58) e *Plebeia droryana* (35). Em sequência, a abelha exótica *Apis mellifera*, da tribo Apini, aparece com 33 interações. As abelhas nativas de grande porte *Bombus pauloensis* e *Bombus morio* interagiram 7 e 6 vezes respectivamente, somando 13 interações, seguido de *Xylocopa frontalis* com 12 interações. Um coleóptero *Caryedes sp.* (Bruchidae) foi registrado com nove interações entre às 9h e 11h como a única espécie a visitar uma única flor, sendo um vetor que

não promoveu a polinização cruzada. Por fim, com sete interações, *Polybia sp.* (Vespidae) foi observada apenas no início da antese, enquanto uma espécie de Halictidae foi registrada cinco vezes apenas no final da antese. Duas espécies de Lepidoptera, *Urbanus sp.* (Hesperiidae) e *Aellopos sp.* (Sphingidae), foram registradas entre as 8h e 9h da manhã, porém cada uma realizou apenas uma interação. Outros visitantes foram desconsiderados, pois não interagiram com os verticilos sexuais.

O pico de visitação durante a antese ocorreu no intervalo 9-10h, com um total de 45 interações. Os horários com maior diversidade foram nos intervalos 9-10h e 10-11h, com as mesmas sete espécies em cada intervalo. O número de interações por espécie dispostas a cada horário está representado na Figura 2.

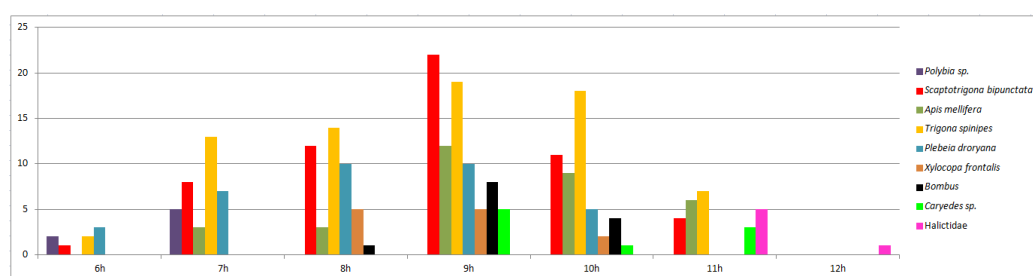


Figura 2: Frequência absoluta de interações dos visitantes florais conforme o horário da antese. Mesmas cores representam uma mesma espécie.

O tempo médio das interações está listado na Tabela 1, com o desvio padrão calculado. *Caryedes sp.* apresentou o tempo médio mais longo, seguido de Halictidae e Vespidae. As abelhas nativas *S. bipunctata* e *T. spinipes*, apesar de mais frequentes, tiveram um tempo médio de interação intermediário, com $35 \pm 21,6$ e $32 \pm 17,1$ segundos, respectivamente.

Tabela 3: Tempo médio de interação com desvio padrão de cada visitante floral de *Pereskia aculeata*.

Espécie	Recurso	Visitas	Tempo médio (s)	Desvio Padrão
<i>Scaptotrigona bipunctata</i> (Apidea; Meliponini)	Pólen e néctar	73	35	$\pm 21,1$
<i>Trigona spinipes</i> (Apidea; Meliponini)	Pólen e néctar	58	32	$\pm 17,1$
<i>Plebeia droryana</i> (Apidea; Meliponini)	Pólen e néctar	35	9	$\pm 3,4$
<i>Apis mellifera</i> (Apidae; Apini)	Pólen e néctar	33	7	$\pm 3,2$

<i>Bombus pauloensis</i> e <i>Bombus morio</i> (Apidae; Bombini)	Pólen e néctar	13	4	±2,7
<i>Xylocopa frontalis</i> (Apidae; Xylocopini)	Pólen e néctar	12	8	±4,9
<i>Caryedes sp.</i> (Chrysomelidae; Bruchinae)	Pólen	9	104	±28,5
<i>Polybia sp.</i> (Vespidae; Epiponini)	Pólen e néctar	7	44	15,6
<i>Espécie 1</i> (Apidea; Halictinae)	Pólen e néctar	6	57	29,5

Não houve diferença na diversidade de visitantes florais entre os morfotipos. O volume do néctar coletado em flores de ambos morfotipos ($n = 10$ para cada morfotipo) não ultrapassou 0,01 mL. A porcentagem de açúcares diluídos encontrada teve média de 10,6% \pm 4,77 para a variável amarela e média de 10,2% \pm 2,58 para a variável vermelha, e não mostraram diferença estatística entre si sob o teste de análise de variância de fator único (valor $p = 0,873$; $F_{[1,8]} = 0,027$).

Nos testes de sistema reprodutivo, as flores emasculadas e intactas não desenvolveram frutos, evidenciando a ausência de apomixia e a dependência de vetores para a polinização. Nos testes de polinização cruzada, a frutificação foi total entre indivíduos do morfotipo vermelho, e de 97% entre indivíduos do morfotipo amarelo. Nos cruzamentos entre morfotipos diferentes, a taxa de frutificação foi de 66%. Testes de autopolinização tiveram uma taxa de sucesso de 78%, mostrando que a espécie é autocompatível (Tabela 2).

Tabela 4: Experimento de sistema reprodutivo em *Pereskia aculeata*. A: morfotipo amarelo; V: morfotipo vermelho; N: número de indivíduos. Valores entre parênteses representam o número de frutos obtidos sobre número total de flores testadas.

	Cruzada (AA)	Cruzada (VV)	Cruzada (AV)	Autopo- linização	Flores intactas	Emasculação	Polinização natural
N	2	2	4	4	4	4	4
Sucesso	97% (29/30)	100% (20/20)	66% (20/30)	78% (24/30)	0% (0/30)	0% (0/30)	100% (30/30)

2.4 Discussão

Pereskia aculeata pertence à subfamília Pereskioideae, ocupando uma posição considerada cedodivergente dentro da família Cactaceae, já que apresenta uma série de características plesiomórficas, tais como metabolismo C3, desenvolvimento de folhas, ausência de tecidos suculentos, ovário ínfero, entre outras (Carneiro *et al.*, 2016). Por conta dessa condição, era esperado que as características florais e estratégias reprodutivas da espécie tivessem um caráter mais generalista. Os testes de cruzamento evidenciaram que *P. aculeata* é autocompatível, divergindo da incompatibilidade relatada para *Pereskia guamacho* (Nassar *et al.*, 2002). O sistema de compatibilidade é extremamente variável entre as famílias botânicas, contudo, em Cactaceae, é possível identificar uma tendência de sistema reprodutivo correlacionado à forma de vida. Espécies colunares, arbustivas ou arborescentes geralmente têm ciclos de vida mais longos, produzem mais flores e tem o desenvolvimento germinativo mais acelerado se comparado com espécies globosas, que produzem poucas flores, têm o ciclo de vida relativamente curto e o desenvolvimento germinativo lento (Rosas-Barrero & Mandujano, 2002). Portanto, as espécies mais longevas tendem a se reproduzir de forma cruzada, enquanto espécies com pouca produção de flores e vida curta tendem a aceitar o próprio pólen como garantia de sucesso reprodutivo.

O gênero *Pereskia* compõe um grupo parafilético. As espécies andinas e do Brasil formam a subfamília Pereskioideae, mais relacionada filogeneticamente à “Cactoideae + Opuntioideae”, enquanto as espécies colombianas, venezuelanas e caribenhas formam a subfamília Leutenbergioideae, mais cedodivergente (Stevens, 2001; Edwards *et al.*, 2005). *Pereskia aculeata* (Pereskioideae) não segue a tendência esperada de sistema reprodutivo devido à seu hábito e ciclo de vida, contrastando ao relatado para *P. guamacho* (Leutenbergioideae), que, apesar de ter muitos caracteres semelhantes à *P. aculeata*, apresenta autoincompatibilidade.

É interessante observar também que *P. aculeata* apresenta dois morfotipos, em que a morfologia das brácteas florais e a coloração dos estames divergem. Apesar de essas diferenças não terem evidenciado alguma seleção de visitantes florais, o cruzamento entre morfotipos apresentou taxa de frutificação mais baixa do que a xenogamia entre morfotipos iguais e a autopolinização, ocorrendo incompatibilidade fraca. Esta incompatibilidade entre morfotipos distintos também ocorre em espécies de outras famílias como *Nymphoides indica* L. Kuntze, Menyanthaceae (Shibayama & Kadono, 2007) e o gênero *Psychotria*, Rubiaceae

(Coelho & Barbosa, 2004), ainda que este tipo de incompatibilidade esteja mais ligado à heterostilia.

Além disso, os testes de cruzamento também evidenciaram a incapacidade de flores intactas isoladas de polinizadores e flores emasculadas de frutificarem, mostrando que a espécie é polinizador-dependente e não apomítica.

A síndrome de polinização de *P. aculeata* se encaixa na descrição melitófila, apresentando antese diurna, tubo floral curto, pouco volume de néctar, muita produção de pólen e odor agradável. Os atributos florais que compõem uma síndrome de polinização são um conjunto de adaptações convergentes das flores às particularidades do sistema sensorial dos polinizadores e suas características morfológicas (Van der Pijl, 1961). Porém, nem sem-



Figura 3: Diversidade de polinizadores efetivos de *Pereskia aculeata* observados no Jardim Botânico de Porto Alegre. A: *Trigona spinipes*; B: *Plebeya droryana*; C: *Scaptotrigona bipunctata*; D: *Apis mellifera*; E: *Bombus morio*; F: *Bombus pauloensis*; G: *Xylocopa frontalis*; H: *Caryedes sp.*; I: *Polybia sp.*; J: Halictidae; K: *Aellopus sp.*; L: *Urbanus sp.*.

pre os polinizadores são os únicos visitantes florais. Algumas espécies que interagem com a flor desempenham uma conduta que não necessariamente promove a troca de pólen, sendo consideradas apenas visitantes florais. Esse tipo de conduta é desinteressante para a planta, partindo do ponto de que um visitante pode pilhar os recursos atrativos oferecidos pela flor sem promover a reprodução cruzada. Para tanto, a tendência das angiospermas é de

especializar cada vez mais a morfologia floral para impossibilitar a interação de grupos não-polinizadores. Espécies melitófilas geralmente possuem o néctar com maior concentração de açúcares, o que não foi observado em *P. aculeata*, o que, somado à morfologia do perigônio mais exposto, que facilita o acesso aos recursos florais, acaba por tornar a flor atrativa e mais acessível a outros grupos não Apidea (Figura 3). Essa é a definição de generalização fenotípica, que pode contrastar com o conceito de generalização ecológica (Ollerton *et al.*, 2007), o qual define que a flor é atrativa para diversas espécies animais sem relação filogenética, mas que possuem semelhanças morfológicas ou comportamentais. Portanto, uma espécie generalista fenotípica pode ser também uma especialista ecológica.

Uma morfologia floral mais generalista é o esperado para um grupo cedodivergente como Pereskioideae. A efemeridade das flores é característica de Cactaceae, as quais raramente duram mais do que um dia. Sendo assim, há uma tendência de que se tenha uma pressão por formas mais generalistas de atração dos polinizadores, ainda que espécies mais derivadas de Cactoideae sejam exclusivamente esfingófilas ou ornitófilas (Mandujano *et al.*, 2010). Em *P. aculeata*, apesar de haver uma fortíssima relação com abelhas, observou-se que há uma considerável diversidade de Apidae interagindo durante todo período de antese, além de representantes de outros grupos, como os coleópteros e os lepidópteros. O recurso coletado pela maioria dos polinizadores efetivos foi preferencialmente o pólen, seja pela coleta para os ninhos ou por alimentação própria, evidenciando que as flores de *P. aculeata* são especializadas na atração de espécies que buscam esse tipo de recurso. Os lepidópteros excepcionalmente tiveram raras interações durante as observações e foram as únicas espécies coletoras exclusivamente de néctar, apesar de promoverem a polinização cruzada.

As três espécies que mais interagiram com as flores de *P. aculeata* foram de abelhas nativas sem ferrão. *Trigona spinipes*, *Scaptotrigona bipunctata* e *Plebeya droryana* são insetos sociais da tribo Meliponini. Abelhas eussociais possuem adaptações morfológicas para a coleta de pólen como pelos dorsais e/ou ventrais e corbícula, uma estrutura localizada na face interna da tíbia do último par de patas, com a função de armazenamento de pólen e que possui importância taxonômica (Figura 4). O pólen serve de alimento para as larvas em desenvolvimento na colmeia, e abelhas operárias patrulham flores para coleta desse recurso para a prole (Witter *et al.*, 2014).

Apis mellifera teve considerável número de interações com as flores. A espécie foi introduzida em 1839 para produção de mel (Witter *et al.*, 2014). As espécies nativas de Meliponini também são comumente utilizadas na meliponicultura, mas, devido ao seu

tamanho corporal reduzido, a produção de mel por *A. mellifera* é mais eficiente e é preferida entre os melicultores (Witter *et al.*, 2014). Assim como as abelhas nativas, *A. mellifera* também é uma espécie eussocial que coleta pólen para a prole, porém a espécie utiliza o néctar para aderir o pólen à corbícula, diminuindo a capacidade de polinização efetiva se comparado às abelhas nativas, que carregam o pólen seco. *Apis mellifera*, portanto, não substitui a tarefa de polinização das abelhas nativas, e sim complementa o serviço, como observado em algumas culturas de plantas (Garibaldi *et al.*, 2013).

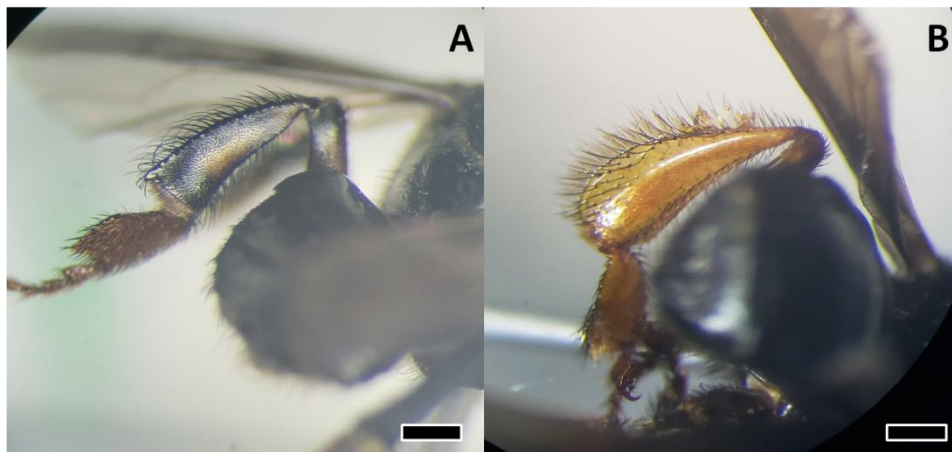


Figura 4: Detalhe da variação morfológica da corbícula, localizada na tíbia do terceiro par de patas em *Scaptotrigona bipunctata* (A) e *Trigona spinipes* (B). Escala: 1 mm.

Abelhas de hábitos solitários também foram observadas polinizando *P. aculeata*. É o caso de Halictidae e *Xylocopa frontalis*. Apesar de não coletarem pólen para a prole, essas espécies buscam o recurso para alimentação própria. Algumas espécies de Halictidae e *X. frontalis* têm o hábito de vibrar as asas quando entram em contato com a flor. Esse mecanismo chamado de *buzz pollination* é fundamental para o processo de polinização em plantas que possuem antera poricida, como Solanaceae (De Luca & Vallejo-Marín, 2013). No caso de *P. aculeata*, o comportamento de vibração não é determinante para o sucesso de polinização, e foi constatado que *X. frontalis*, apesar da grande abundância em campo durante as observações, teve um baixo número de interações pois sempre preferia visitar flores mais robustas, principalmente de Fabaceae e Solanaceae, que estavam floridas próximas de *P. aculeata*.

O gênero *Bombus* é composto por abelhas de grande porte e adaptadas ao frio. Ambas as espécies *B. pauloensis* e *B. morio* tiveram comportamentos idênticos, interagindo com muitas flores, porém com visitas muito breves. Chegam a visitar o dobro de flores por minuto se comparadas a *A. mellifera* (Benavides, 2008). *Bombus* possui fases sociais e solitárias,

sendo assim, também é coletora de pólen para alimentação própria ou da prole (Roubik, 1992).

Por fim, as espécies não pertencentes à família Apidae tiveram menor número de interação. O coleóptero *Caryedes sp.*, assim como as abelhas solitárias, alimenta-se do pólen. Com o corpo mais glabro, com poucas estruturas de aderência do pólen e visitando apenas uma única flor, *Caryedes sp.* não é um polinizador tão eficiente como abelhas, apesar de que o animal consegue deslocar o pólen para o estigma, e pela longa duração da interação, a conduta de fato promove a autopolinização. Já a vespa *Polybia sp.*, em contraste com *Caryedes sp.*, visita diversas flores em busca de néctar e pólen para alimentação própria. Quando adultas, as vespas alimentam-se dos recursos florais como néctar e pólen, porém, por serem insetos sociais, há um comportamento de coleta de alimento para as larvas, que se alimentam de proteína animal (Witter *et al.*, 2014). Porém, durante as observações não foi constatada a conduta de caça.

Dessa maneira, é constatado que os polinizadores efetivos de *P. aculeata* buscam preferencialmente o pólen para alimentação própria ou da prole, evidenciando uma especialização ecológica, já que o comportamento de diversos táxons é semelhante. Os lepidópteros observados diferenciam-se dos demais insetos, já que buscam exclusivamente o néctar como recurso alimentar. Apesar de suas condutas promoverem a polinização através da interação com os verticilos sexuais, as observações de que os animais não buscaram o pólen como principal recurso e as poucas interações fazem com que os lepidópteros sejam considerados como polinizadores eventuais.

2.5 Conclusão

Pereskia aculeata é uma espécie autocompatível e polinizador-dependente. A autocompatibilidade é um resultado inesperado para o hábito e o ciclo de vida da espécie, opondo-se à relatos da literatura de autoincompatibilidade no gênero *Pereskia* (Nassar *et al.*, 2002), uma vez que plantas de ciclos de vida longos e com grande produção de flores tendem a ser autoincompatíveis (Mandujano *et al.*, 2009). A espécie também demonstrou certo grau de incompatibilidade xenogâmica entre diferentes morfotipos.

Apesar de filogeneticamente a espécie ocupar uma posição cedodivergente em Cactaceae e apresentar uma morfologia floral onde os seus recursos atrativos se encontram mais expostos a qualquer tipo de visitante floral, *P. aculeata* corresponde às características de síndrome melitófila e confirma a hipótese de ser polinizada preferencialmente por abelhas.

Contudo, insetos de outros táxons foram observados interagindo com as flores, porém assumindo comportamentos semelhantes de coleta do pólen, seja para alimentação própria ou para transportar aos seus ninhos. Sendo assim, a flor de *P. aculeata* pode ser considerada como adaptada fenotipicamente à forma generalista, porém ecologicamente especializada em coletores de pólen.

2.6 Referências bibliográficas

- ALMEIDA FILHO, J. D., & CAMBRAIA, J. (1974). Estudo do valor nutritivo do “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* Mill.). Revista Ceres, 21(114), 105-111.
- BENAVIDES, M. L. A. (2008). Aspectos da biologia reprodutiva de *Bombus morio* (SWEDERUS) e *Bombus atratus* FRANKLIN (HYMENOPTERA, APIDAE) (Doctoral dissertation, Dissertation, Federal University of Viçosa).
- CARNEIRO, A. M.; FARIAS-SINGER, R.; RAMOS, R. A.; NILSON, A. D. (2016) Cactos do Rio Grande do Sul. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 227p.
- CARVALHO, E. G., SOARES, C. P., BLAU, L., MENEGON, R. F., & JOAQUIM, W. M. (2014). Wound healing properties and mucilage content of *Pereskia aculeata* from different substrates. Revista Brasileira de Farmacognosia, 24(6), 677-682.
- COELHO, C. P., & BARBOSA, A. A. A. (2004). Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Mull. Arg.(Rubiaceae) em mata de galeria. Acta Botanica Brasilica, 18(3), 481-489.
- DE LUCA, P. A., & VALLEJO-MARIN, M. (2013). What's the ‘buzz’about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. Current opinion in plant biology, 16(4), 429-435.
- EDWARDS, E. J., NYFFELER, R., & DONOGHUE, M. J. (2005). Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. American Journal of Botany, 92(7), 1177-1188.
- GARIBALDI, L. A., STEFFAN-DEWENTER, I., WINFREE, R., AIZEN, M. A., BOMMARCO, R., CUNNINGHAM, S. A. & BARTOMEUS, I. (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. science, 339(6127), 1608-1611.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T.; HERNÁNDEZ, H. M.; DE-NOVA, J. A.; PUENTE, R.; EGUIARTE, L. E. E MAGALLÓN, S. (2011). Phylogenetic relationship and evolution of

growth forming Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany* 98(1):44-61.

HUNT, D. R.; TAYLOR, N. P.; CHARLES, G. (2006). *The new cactus lexicon, atlas of illustrations*. Milbourn Port, Text. Dh Publications.

KINUPP, V. F., & BARROS, I. B. I. D. (2007). Riqueza de plantas alimentícias não-convencionais na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(1), 63-65.

MERCÊ, A.L.R. et al. (2001a) Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and Co²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, and Ni²⁺. *Bioresource Technology*, v.76, n.1, p.29-37.

MANDUJANO, M., CARRILLO-ANGELES, I., MARTÍNEZ-PERALTA, C., & GOLUBOV, J. (2010). Reproductive biology of Cactaceae. In *Desert plants* (pp. 197-230). Springer, Berlin, Heidelberg.

NASSAR, J. M., HAMRICK, J. L., & FLEMING, T. H. (2002). Allozyme diversity and genetic structure of the leafy cactus (*Pereskia guamacho* [Cactaceae]). *Journal of Heredity*, 93(3), 193-200.

OLLERTON, J., KILLICK, A., LAMBORN, E., WATTS, S., & WHISTON, M. (2007). Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. *Taxon*, 56(3), 717-728.

RAMBO, B. (1950). A Porta de Torres. *Anais Botânicos do Herbário Barbosa Rodrigues*. Itajaí. v.2, n.2, p.125-136.

ROSA, S. M., & SOUZA, L. A. (2003). Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 25(2), 415-428.

ROSAS-BARRERA MD, MANDUJANO MC (2002) La diversidad de historias de vida de cactaceas, aproximación por el triángulo demográfico. *Cact Suc Mex* 47:33–34

ROUBIK, D. W. (1992). *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press.

SOUZA, M. R., CORREA, E. J. A., GUIMARÃES, G., & PEREIRA, P. R. G. (2009). O potencial do ora-pro-nobis na diversificação da produção agrícola familiar. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 4(2).

- SOUZA, L. F., GASPARETTO, B. F., LOPES, R. R., & BARROS, I. B. (2016). Temperature requirements for seed germination of *Pereskia aculeata* and *Pereskia grandifolia*. *Journal of thermal biology*, 57, 6-10.
- SHIBAYAMA, Y., & KADONO, Y. (2007). Reproductive success and genetic structure of populations of the heterostylous aquatic plant *Nymphoides indica* (L.) Kuntze (Menyanthaceae). *Aquatic Botany*, 86(1), 1-8.
- SHEINVAR, L. 1985. Cactáceas. *Flora Ilustrada Catarinense*
- STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017.
- VAN DER PIJL, L. (1961). Ecological aspects of flower evolution. II. Zoophilous flower classes. *Evolution*, 44-59.
- VIEIRA, E. F. (1984). Rio Grande do Sul: geografia física e vegetação. Porto Alegre: Sagra. 256p.
- WITTER, S., NUNES-SILVA, P., BLOCHTEIN, B., LISBOA, B. B., & IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. (2014). As abelhas e a agricultura. Porto Alegre: EDIPUCRS.

3. Capítulo 2 – BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE *Cereus hildmannianus* K. SCHUM. (CACTACEAE)

3.1 Introdução

Segundo Edwards *et al.* (2005), a subfamília Cactoideae teria se originado na metade sul da América do Sul. Nesse grupo, estão localizados cerca de 2/3 das espécies de cactos, apresentando uma grande diversidade de hábitos e formas de crescimento, desde arborescentes, passando por globulares solitários ou aglomerados, até epífitos. Dentre as muitas tribos incluídas nessa subfamília, um clado denominado BCT, que compreende as tribos Browningieae, Cereeae e Trichocereae, tem origem andina (Ritz *et al.*, 2007) e compreende 30 gêneros e mais de 400 espécies (Barthlott & Hunt, 1995), sendo 27 gêneros exclusivos da América do Sul (Nyfeller & Eggli, 2010).

A tribo Cereeae, pertencente à subfamília Cactoideae, é circunscrita, previamente, como espécies que possuem o pericarpelo, receptáculo e frutos glabros, ainda que algumas espécies ainda apresentem essas estruturas lanosas reduzidas. Há carência de uma definição mais acurada das relações filogenéticas dentro da tribo, ainda que alguns grupos dentro de Cereeae apresentem características diagnósticas, como a presença do cefálio na subtribo Melocactinae (Taylor & Zappi, 1989). Contudo, outros grupos como a subtribo Cereinae, em que está localizado o gênero *Cereus*, necessitam outras abordagens taxonômicas, já que caracteres macromorfológicos não são suficientes para definir o grupo (Taylor & Zappi, 1989).

O gênero *Cereus* compreende 25 espécies, com distribuição em toda a América do Sul, exceto a região amazônica (Taylor & Zappi, 1989). O gênero é caracterizado pelo porte arborescente, em algumas espécies chegando a mais de 15 metros de altura, com ramos eretos e fortemente costados. No Brasil, ocorrem 16 espécies (Flora do Brasil, 2020) e, no Rio Grande do Sul, ocorre apenas a espécie *Cereus hildmannianus* K. Schum.

Cereus hildmannianus K. Schum. é uma espécie de porte arborescente que pode alcançar facilmente 15 m de altura. Seus ramos são cilíndricos e apresentam em média 5 a 12 costelas, cujo número pode variar até no mesmo ramo. As aréolas são pouco lanosas com coloração marrom, acinzentando-se em ramos mais antigos. Delas, partem espinhos que possuem coloração avermelhada quando jovens. As flores possuem antese noturna e variam de 10 a 14 cm de comprimento, com tépalas brancas, podendo variar para tons de rosa a

vináceo nas mais externas. Os frutos são amarelados e, quando maduros, abrem-se em três fendas longitudinais do ápice até a base, expondo a polpa branca (Carneiro *et al.* 2016). As fenofases de floração e frutificação da espécie ocorrem entre dezembro e julho, com o pico ocorrendo entre os meses de janeiro e março (Pereira, 2009).

A tuna, como é popularmente conhecido o *C. hildmannianus* na região sul do Brasil, apresenta potencial econômico ornamental e também alimentício. Contudo, a espécie não é produzida como recurso agrícola nas regiões em que ocorre, sendo raramente citada em levantamentos etnobotânicos do Rio Grande do Sul como uso alimentício (Pesce, 2011). Chaves & Zanin (2012) citam o uso medicinal da mucilagem de *Cereus jamacaru* DC. no município de Erechim-RS, o que certamente trata-se de uma identificação equivocada, já que *C. jamacaru* possui sua ocorrência natural restrita à região Nordeste (Taylor & Zappi, 2004). Como ainda estão indefinidas as características macromorfológicas que delimitam o grupo, é possível que ocorram identificações imprecisas. Kamakshi *et al.* (2015) demonstraram a eficácia do uso do extrato de tuna como repelente do mosquito *Aedes aegypti*, vetor da dengue, assim como *C. jamacaru* possui potencial ação antimicrobiana (Davet *et al.*, 2008).

Outros estudos focados na fruticultura de plantas alimentícias não convencionais de outras espécies do gênero *Cereus* demonstram o forte potencial econômico do grupo. Frutos de *Cereus peruvianus* (L.) Mill. têm sido largamente produzidos em Israel. Por conta das características fisiológicas de Cactaceae, essas espécies são ideais para cultivo em áreas áridas, já que, com o metabolismo especializado, as espécies têm o consumo de água mais eficiente, além de suportar altas temperaturas e baixos índices de precipitação (Mirhazi, 2014). As espécies ocorrentes no nordeste brasileiro também já foram descritas pelo uso alimentício, como *Cereus albicaulis* (Britton & Rose) Luetzel. e principalmente *C. jamacaru* (Colaço 2006; De Albuquerque *et al.* 2007; Lucena *et al.* 2012; Chaves & Barros, 2015; Santana *et al.* 2018).

Cereus hildmannianus possui uma larga distribuição no sul do Brasil, Uruguai e Pampa argentino. No Rio Grande do Sul, a espécie ocorre tanto no Pampa quanto na Mata Atlântica, e para tal, a planta tolera uma grande variedade de ambientes, ocorrendo no litoral, principalmente em áreas de restinga, além de florestas úmidas e semiúmidas e campos abertos (Taylor & Zappi, 2004). Geralmente ocorre em solos arenosos ou rochosos, porém eventualmente é encontrada como epífita. São reconhecidas duas subespécies: *Cereus hildmannianus* subsp. *hildmannianus*, distribuída principalmente na região litorânea e na porção leste do Pampa, principalmente na região da Serra do Sudeste; e *Cereus*

hildmannianus subsp. *uruguayanus*, que ocorre na porção oeste do Pampa, além das regiões do Alto Uruguai, oeste do Estado de Santa Catarina e por todo o Estado do Paraná. As subespécies se distinguem morfológicamente pelo comprimento do tubo floral, onde *C. hildmannianus* subsp. *uruguayanus* é cerca de 7 cm mais curto (Carneiro *et al.*, 2016). Análises moleculares recentes demonstraram um processo de vicariância entre as populações de tuna no Rio Grande do Sul após as mudanças climáticas do período Quaternário (Silva *et al.*, 2018), corroborando com a ideia da existência de duas subespécies.

O conceito de síndrome de polinização foi popularizado por Faegri & Van der Pijl (1979) e basicamente consiste em um potencial preditivo do polinizador efetivo através da análise da morfologia floral. A flor de *C. hildmannianus* possui antese noturna, tépalas internas brancas, tubo floral estreito e comprido e odor adocicado, características que remetem à síndrome esfingófila, mediada por mariposas noturnas da família Sphingidae, ou quiropterófila, mediada por morcegos. Apesar da efetividade preditiva da síndrome de polinização, principalmente em espécies polinizador-dependentes (Rosas-Guerrero *et al.*, 2014), apenas a observação em campo durante a antese é capaz de comprovar com certeza qual o polinizador efetivo das espécies botânicas. Levando em conta a variação morfológica existente nas diferentes populações de *C. hildmannianus* e um processo de vicariância ocorrente, é de se supor que diferentes agentes polinizadores podem estar atuando na evolução da espécie.

O estudo da biologia da polinização envolvendo cactos do Rio Grande do Sul é praticamente inexistente. Das 65 espécies ocorrentes no Estado (Carneiro *et al.*, 2016), apenas *Parodia neohorstii* N.P. Taylor foi estudada quanto à polinização e a estratégias reprodutivas (Cerceanu *et al.*, 2019). Essa área, apesar de ainda ser pouco investigada, provém importantes resultados acerca das estratégias de reprodução de espécies que muitas vezes estão classificadas em algum grau de ameaça, além de compreender diferentes estratégias de interação interespecíficas. Os estudos dessas estratégias, associados ao sistema de compatibilidade e comportamento germinativo, conduzem a um entendimento muito mais completo da reprodução de espécies e ajudam em tomadas de decisão conservacionistas, no caso de espécies ameaçadas, e de produção agrícola, no caso de espécies com potencial econômico.

3.2 Metodologia

Área de estudo: *Cereus hildmannianus* é uma espécie com ampla distribuição na região Sul do Brasil, ocorrendo em diferentes ambientes. Assim, escolhemos contemplar três populações em ambientes distintos do Rio Grande do Sul: Reserva Biológica do Lami José Lutzenberger, no município de Porto Alegre (30°14'10.3"S 51°05'57.9"W), e áreas conservadas em sítios particulares nos municípios de São Francisco de Assis (29°34'10.8"S 55°05'22.6"W) e Caçapava do Sul (30°39'04.9"S 53°34'34.9"W) (Figura 1). As áreas foram selecionadas a partir das localidades amostradas no estudo de Silva *et al.* (2018) sobre a evolução da espécie durante das mudanças climáticas do período Quaternário, a fim de contemplar a distribuição das duas subespécies existentes (Porto Alegre e São Francisco de Assis) e mais uma população intermediária (Caçapava do Sul). Porto Alegre fica situado numa zona de influência de três unidades geomorfológicas - o Escudo Sul-riograndense, a Depressão Central e a Planície Costeira, sendo uma área de transição dos biomas Pampa e Mata Atlântica (Rambo, 1950). Na zona sul do município, fica localizada a Reserva Biológica Lami José Lutzenberger, uma unidade de conservação municipal de vegetação predominantemente de restinga, com a presença de banhados e vassourais. O município de São Francisco de Assis fica localizado inteiramente no Pampa, na zona de influência da Depressão Central e da região da Campanha. O local é caracterizado por afloramentos areníticos e vegetação predominantemente campestre e rios com mata ciliar (Santini, 1976). Por fim, Caçapava do Sul está situada no Escudo Sul-riograndense, uma região de altitudes de 500 m e constituída por fitofisionomia savanítica, com a presença de arvoretas, algumas espécies arbóreas e afloramentos rochosos que datam do período Pré-cambriano, diferenciando-se do Pampa *sensu stricto* (IBGE, 1986). Portanto, a população de Porto Alegre foi selecionada representando a linhagem do leste, enquanto a população de São Francisco de Assis representa a linhagem do oeste. Os estudos de Caçapava do Sul foram feitos para representar a linhagem intermediária, ainda que segundo Silva *et al.* (2018), esta linhagem possui uma maior relação com a linhagem do leste do Rio Grande do Sul.

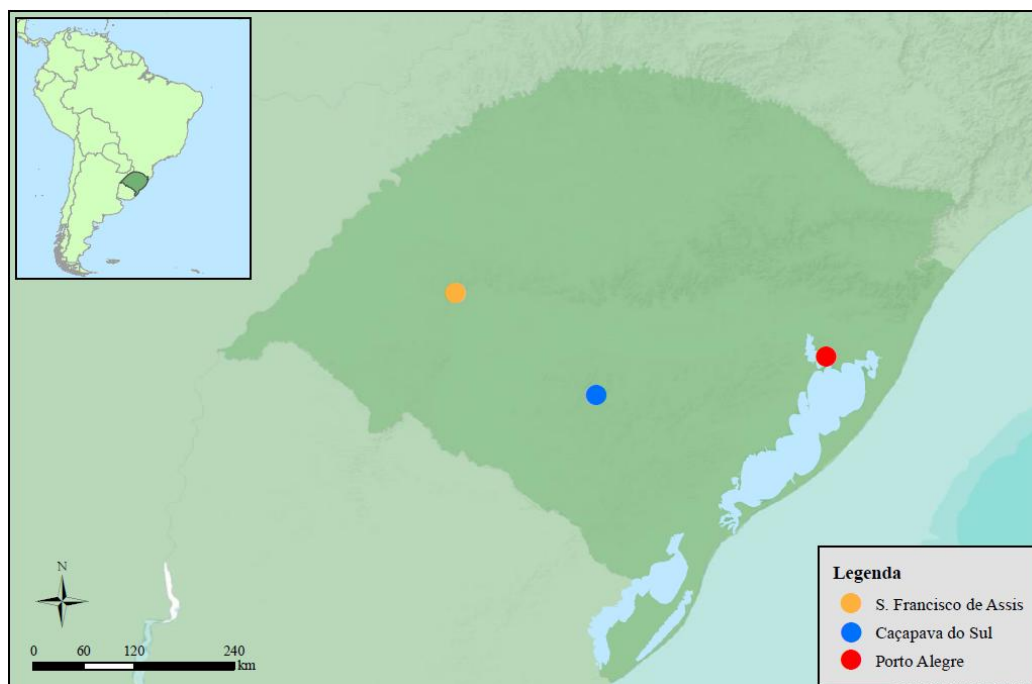


Figura 1: Mapa com a localização das populações de *Cereus hildmannianus* contempladas nas observações de polinizadores e visitantes florais.

Observação em campo: com o objetivo de registrar e identificar os visitantes florais e polinizadores, o monitoramento ocorreu no mês de janeiro de 2019 na população de Caçapava do Sul e entre dezembro de 2019 e janeiro de 2020 nas populações de São Francisco de Assis e Porto Alegre. O período corresponde à fase fenológica de florada da espécie, que ocorre entre dezembro e julho, com o pico ocorrendo entre janeiro e março, conforme observado por Pereira (2009). As observações foram realizadas durante a antese e completaram 180 horas de observação somando-se as três populações (100 h em Porto Alegre e 40 h em Caçapava do Sul e São Francisco de Assis). Foram utilizadas câmeras digitais Canon EOS Rebel SL1 com tripé e armadilha fotográfica Bushnell Trail Camera 119637C para o registro de vídeos e fotos que posteriormente foram editados no *software* Vegas Pro 15.0. Os vídeos auxiliaram a identificar e descrever com maior detalhe o tipo de conduta dos visitantes florais, além da duração e frequência da interação. Para fins de classificação dos visitantes florais, apenas as espécies de animais que entraram em contato com ambos os verticilos sexuais foram considerados como polinizadores efetivos. As espécies entomológicas foram coletadas e preservadas em álcool 70% para posterior identificação e depositadas na coleção entomológica do museu da Fundação Estadual de Pesquisas Agrônomicas do Rio Grande do Sul (FEPAGRO).

Sistema reprodutivo: testes de polinização controlada foram realizados apenas na população de *C. hildmannianus* de Porto Alegre. As flores foram ensacadas antes do começo

da antese para o isolamento de visitantes florais e, após a abertura completa do perigônio, foram submetidas a um dos seguintes tratamentos: 1) Polinização manual cruzada: a flor recebeu pólen proveniente de outro indivíduo; 2) Autopolinização manual: a flor recebe pólen proveniente da própria flor; 3) Emasculação: os estames foram retirados com o auxílio de uma tesoura, a fim de avaliar a capacidade da espécie de realizar apomixia; 4) Flores intactas: a flor foi ensacada sem qualquer tipo de outra manipulação, a fim de avaliar a capacidade da espécie de promover a polinização sem a necessidade de um vetor. Após os tratamentos, as flores voltaram a ser ensacadas. Outras flores foram marcadas sem ensacamento, para constatar a ocorrência de polinização natural. A taxa de frutificação foi avaliada assim que os frutos atingiram a maturidade. Foi estipulado um n amostral de 30 flores por tratamento.

Atributos florais: características florais foram descritas utilizando cinco flores de cada população. As dimensões de comprimento do tubo floral e diâmetro da flor foram mensurados com paquímetro. Dados do volume de néctar e concentração de açúcares diluídos foram mensurados usando micropipetador de 200 μ L e refratômetro de mão (0-30%). Os dados foram comparados em análise de variância de fator único.

3.3 Resultados

Cereus hildmannianus é um cacto colunar de hábito arborescente. Os indivíduos observados em campo geralmente ocorrem em associação com espécies arbustivas e em raros casos na forma epífita sobre árvores de grande porte. Em alguns casos, os indivíduos podiam alcançar mais de 15 metros de altura, porém espécimes de pequeno porte também produziam flores, fazendo com que a altura não seja um fator determinante na atividade sexual. Geralmente os cladódios possuíam de 5 à 8 costelas, havendo variação no mesmo ramo. Os espinhos apresentam uma coloração avermelhada quando jovens, assumindo tons acinzentados em ramos mais antigos. Os frutos são carnosos e esverdeados, tornando-se amarelo ou laranja com o amadurecimento. As flores possuem tépalas com a face interna branca e a face externa variando de rosa a creme, ocorrendo ambas as variedades em todas as populações estudadas. O tubo floral é comprido, podendo ultrapassar de 20 cm nas populações de Porto Alegre e Caçapava do Sul, porém sendo estatisticamente mais curto na população de São Francisco de Assis, onde em média o tubo floral atinge 16 cm.

Os testes de sistema reprodutivo evidenciaram que *Cereus hildmannianus* é polinizador-dependente e predominantemente autoincompatível. Os tratamentos de flores intactas e emasculadas não frutificaram, descartando a possibilidade de apomixia e

autopolinização espontânea. As flores tratadas com polinização manual cruzada tiveram a taxa de frutificação de 83,3% (25/30), enquanto os tratamentos de autopolinização geraram um único fruto (Tabela 1).

Tabela 1: Experimento de sistema reprodutivo em *Cereus hildmannianus*. Valores entre parênteses representam a quantidade de frutos formados sobre o número de flores tratadas. N: número de indivíduos que receberam o tratamento.

	Cruzadas	Autopolinização	Emasculação	Intactas	Polinização natural
N	14	15	8	16	5
Frutificação	83,3% (25/30)	3% (1/30)	0% (0/30)	0% (0/30)	70% (21/30)

A flor possui antese noturna, iniciando a abertura do perianto por volta das 21h e entrando em senescência entre as 6h e 9h do dia seguinte, dependendo da luminosidade do dia que pode variar devido às condições climáticas. As análises de morfologia floral mostraram que o comprimento e o diâmetro do perigônio possuem pouca variação dentro das populações (Tabela 2). Contudo, a população de São Francisco de Assis teve as dimensões menores do que as flores de Porto Alegre e Caçapava do Sul, constatando valor de significância após a análise de variância de fator único (valor-p = 0,0001 para comprimento e valor-p = 0,006 para diâmetro). O néctar foi coletado a partir da câmara nectarífera, que fica na base do tubo floral (Figura 2). O volume de néctar médio aferido foi de $94,8 \mu\text{L} \pm 2,38$ no início da antese e a concentração de açúcares média foi de $23,4\% \pm 1,67$ (n = 5).

Tabela 2: Comprimento e diâmetro do perigônio de flores de *Cereus hildmannianus* das três populações estudadas. Asteriscos representam valores significativamente diferentes dos demais na mesma coluna. *Valor-p = 0,0001; **Valor-p = 0,006.

População	Comprimento (cm)	Diâmetro (cm)
Porto Alegre	$21,4 \pm 0,65$	$16,8 \pm 1,92$
Caçapava do Sul	$20,3 \pm 0,82$	$15,4 \pm 0,83$
S. Francisco de Assis	$16,5 \pm 0,83^*$	$13,4 \pm 1,14^{**}$



Figura 2: Corte longitudinal da flor de *Cereus hildmannianus*, mostrando o ovário (Ov) e a câmara nectarífera (CN). Escala: 1 cm.

Cereus hildmannianus é polinizado exclusivamente por mariposas Sphingidae. Através das análises das filmagens e fotografias, foi possível classificar as mariposas como polinizadores efetivos da planta, já que os animais necessariamente interagem com os estames e o estigma, realizando movimentos de vibração com as asas, em que o corpo dos lepidópteros fica coberto de pólen, e um mesmo indivíduo visita boa parte das flores em antese. Foram identificadas três espécies interagindo com as flores: *Eumorpha satellitia*, *Manduca sexta* e *Eumorpha vitis* (Figura 3).

Na população de Caçapava do Sul, foi observada a presença das três espécies interagindo simultaneamente no mesmo indivíduo. Essa população também apresentou o maior número de visitas, sendo registradas 44 interações em uma noite. Cada inseto interagiu com diversas flores do mesmo cacto. Em São Francisco de Assis, foram observadas apenas visitas e interações de *Manduca sexta*, em intervalos de 30 minutos. Diferentemente de Caçapava do Sul, as visitas eram solitárias. Em Porto Alegre, apesar de terem sido realizadas 100 horas de observação, foram registradas apenas quatro visitas e não foi possível capturar e



Figura 3: Mariposas Sphingidea polinizadoras das flores de *Cereus hildmannianus*. Da esquerda para a direita: *Eumorpha satellitia*, *Maduca sexta* e *Eumorpha vitis*. Escala: 1 cm.

identificar a espécie. Ocorreram duas visitas solitárias e uma visita em dupla, todas excepcionalmente rápidas, não durando mais do que dois segundos. Comparando com as outras localidades, os esfingídeos demoraram em média 47 segundos \pm 14,57 em Caçapava do Sul e 66 segundos \pm 24,4 em São Francisco de Assis para realizar a conduta completa durante uma interação. O pico de interações acontece no intervalo entre 0h e 2h, e a partir das 3h as visitas tornam-se praticamente inexistentes (Figura 4). Entre as 21h e 23h foram registradas apenas visitas sem interação com os verticilos florais.

Pequenos coleópteros foram observados recorrentemente adentrando o perianto. Contudo, não foi observada nenhuma conduta de polinização. As espécies interagem principalmente com as tépalas, utilizando o espaço entre elas para cópula. Eventualmente contatam os estames mais curtos, porém não foram observados interagindo com o estigma ou visitando mais de uma flor durante a antese, sendo, portanto, considerados como visitantes florais.

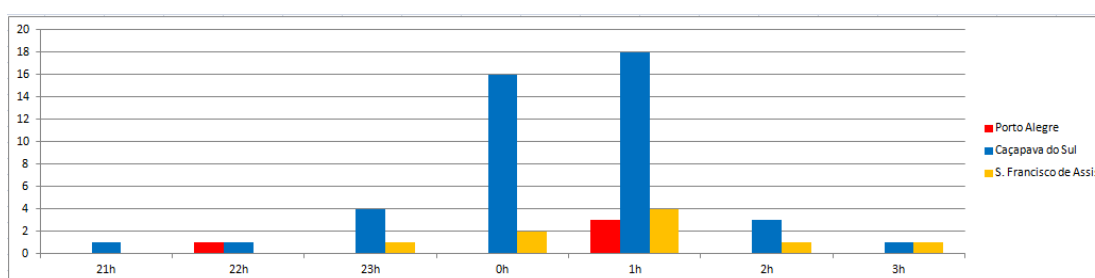


Figura 4: Gráfico de frequência absoluta de interações de mariposas Sphingidea em flores de *Cereus hildmannianus* nas diferentes populações observadas.

3.4 Discussão

A morfologia floral de *C. hildmannianus* corrobora com a descrição de síndrome de polinização esfingófila como descrito por Faegri & Van der Pijl (1979), com antese noturna,

perigônio de interior branco e infundibuliforme, com o tubo floral longo e estreito, e liberação de odor adocicado. As características de síndrome esfingófila são observadas em pelo menos 13% dos gêneros da família Cactaceae (Vogel, 1990). As espécies *Echinopsis oxygona* Zucc. e *Epiphyllum phyllanthus* L. Haw., que têm distribuição natural sobreposta com *C. hildmannianus* no Rio Grande do Sul (Carneiro *et al.*, 2016), apresentam características florais semelhantes, porém não há estudos evidenciando um compartilhamento de polinizadores. Estudos envolvendo o gênero *Cereus*, como *Cereus peruvianus* (L.) Mill. (Silva & Sazima, 1995), *Cereus fernambucensis* Lem. (Locatelli & Machado, 1999) e *Cereus hexagonus* (L.) Mill. (Soriano & Ruiz, 2002) no Brasil, além das espécies argentinas *Cereus forbessi* C. F. Forst. (Moré *et al.*, 2014) e *Cereus aethiops* Haw. (Eggl & Giorgetta, 2015), foram observados sendo polinizados por esfingídeos, confirmando a síndrome de polinização, assim como ocorre em *C. hildmannianus*. *Cereus repandus* (L.) Mill. e *Cereus horrispinus* Backeb. (como gênero *Subpilocereus*, Nassar *et al.*, 1997), ocorrentes na Venezuela, apresentam a morfologia floral campanulada e são atrativas de morcegos.

A florada de *C. hildmannianus* ocorre entre dezembro e junho, semelhante à mensuração de Pereira (2009). Nos meses de auge da florada, entre janeiro e fevereiro, geralmente na população abrem cerca de 10 a 15 flores por noite, havendo um aparente pico durante a semana de lua cheia. Locatelli & Machado (1999) evidenciaram esse comportamento denominando-o como ‘pulsos de florada’ em *C. fernambucensis*, havendo alguma correlação entre os picos de florada com a semana de lua cheia, possivelmente tratando-se de um ajuste fenológico da planta para facilitar a orientação dos polinizadores em noites mais iluminadas. Porém, segundo Eggl & Giorgetta (2015), em observações fenológicas em *C. aethiops*, o tempo de florada dos indivíduos pode divergir até três semanas, não corroborando a hipótese de uma orientação pelo ciclo lunar.

A conduta dos esfingídeos durante a interação com as flores necessariamente promove a polinização cruzada. Os indivíduos realizavam voos em torno da flor com a probóscide esticada. Em seguida, pousavam sobre as anteras ou o estigma e adentravam o tubo floral para acessar a câmara nectarífera, onde se mantinham por cerca de um minuto. Nesta posição, recorrentemente os insetos vibravam as asas, espalhando muito pólen sobre o corpo. Ocorre um pico de visitas por volta da 1h da madrugada, cerca de quatro horas após o início da antese. Duas horas depois, as visitas se tornam raras ou inexistentes. Toda essa descrição é semelhante à relatada em *C. peruvianus* (Silva & Sazima, 1995) e *C. aethiops* (Eggl & Giorgetta, 2015). Os esfingídeos são polinizadores bastante efetivos por possuírem escamas e pelos por todo o corpo, o que facilita a aderência do pólen para o transporte (Linhart &

Mendenhart, 1977). Moré *et al.* (2014) identificaram os padrões de deposição de pólen em esfingídeos conforme a morfologia floral e relataram que flores infundibuliformes, como encontrado em *Cereus*, apresentam uma deposição dispersa pelo corpo, enquanto flores tubulares, como encontrado em *Nicotiana* (que compartilha polinizadores esfingídeos com as cactáceas), têm um padrão de deposição mais concentrada na probóscide. Portanto, a probóscide torna-se uma importante estrutura na deposição de pólen, já que espécies com a probóscide mais curta necessitam adentrar o tubo floral para acessar a câmara nectarífera, e consequentemente colocando o corpo inteiro em contato com as anteras, aumentando a eficiência na polinização. Das três espécies observadas nesse estudo, *Manduca sexta* apresentou a maior probóscide, com 9.5 cm, interagindo mais superficialmente com o perianto, enquanto *Eumorpha vitis* e *Eumorpha satellitia* apresentaram respectivamente 3,5 e 4 cm, e consequentemente adentravam boa parte do corpo no tubo floral (Figura 5). Eggli & Giorgetta (2015) fizeram a mesma observação em *C. aethiops*, em que o polinizador *Manduca sexta* apresentou a probóscide maior em relação aos outros esfingídeos.

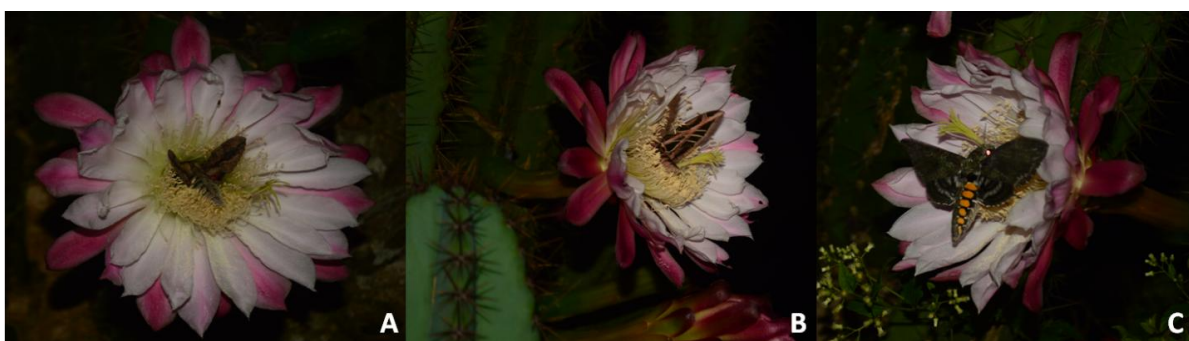


Figura 5: Mariposas Sphingidae durante interação de polinização com flores de *Cereus hildmannianus* em Caçapava do Sul-RS. A: *Eumorpha satellitia*; B: *Eumorpha vitis*; C: *Manduca sexta*.

As observações em Porto Alegre tiveram a frequência de interações muito abaixo do esperado. Mesmo com 100 horas de observação, foram registradas apenas quatro interações em uma única noite, muito abaixo do encontrado em Caçapava do Sul e São Francisco de Assis. Haber & Frankie (1989), ao estudar uma comunidade de esfingídeos polinizadores na Costa Rica, constataram que, das 65 espécies ocorrentes na localidade, apenas sete foram observadas durante a estação seca, e, logo após o início da estação chuvosa, o número de interações de polinização dos esfingídeos teve um salto. As observações em Porto Alegre ocorreram durante a estação chuvosa, em que a média histórica de precipitação registra 101,2 mm em dezembro e 100,1 mm em janeiro. Entretanto, em dezembro de 2019, foi registrada uma precipitação acumulada de 19 mm (Figura 6), uma condição atipicamente seca para o período, podendo influenciar no ciclo reprodutivo dos esfingídeos, e que

justificaria a ausência durante as observações. As quatro interações registradas ocorreram no dia 26 de janeiro de 2020, depois de seguidos dias de chuva.

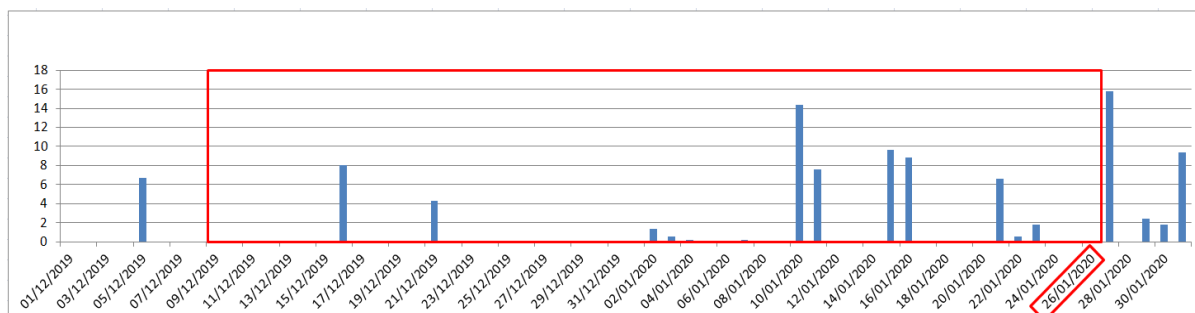


Figura 6: Precipitação acumulada (mm) registrada em Porto Alegre entre dezembro de 2019 e janeiro de 2020 (INMET, 2020). Destacado em vermelho o período de observação de polinizadores na Reserva Biológica Lami José Lutzenberger. A data 26.01.2020 está em destaque como único registro de atividade dos esfingídeos.

Após o corte do tubo floral para a coleta e análise do néctar, foi obtida a média de $94,8 \mu\text{L} \pm 2,38$ e concentração de açúcares de $23,4\% \pm 1,67$. Silva & Sazima (1995) mensuraram $110,3 \mu\text{L}$ e concentração de $27,7\%$ em *C. peruvianus*, enquanto Locatelli & Machado (1999) encontraram $100 \mu\text{L}$ e concentração de 24% em *C. fernambucensis*. Os valores são muito similares e estão dentro do esperado para espécies do mesmo gênero. Scogin (1985), em um estudo abrangente sobre o néctar em Cactaceae, observou que a concentração de açúcares nas espécies da família é pouco variável, e que intervalos de concentração correspondem a determinadas síndromes de polinização. Espécies com concentração de açúcares entre 15 e 24% são atrativas para esfingídeos e já foram observadas em outras espécies botânicas (Haber & Frankie, 1989).

O comprimento do tubo floral apresentado nas populações de Porto Alegre e Caçapava do Sul apresentaram cerca de 20 cm. Este resultado é significativamente maior do que o comprimento encontrado na população de São Francisco de Assis, onde o tubo atingia em média 16 cm. Esta diferença morfológica pode estar associada à descrição das subespécies, onde *C. hildmannianus* subsp. *hildmannianus* é descrita com o tubo maior em relação à *C. hildmannianus* subsp. *uruguayanus* (Carneiro *et al.*, 2016). Além disso, a localização das populações estudadas é concordante com a distribuição dos haplótipos identificados por Silva *et al.* (2018), onde evidenciaram um processo de vicariância da espécie, separando em duas linhagens, uma na porção oeste do Rio Grande do Sul, e outra na porção leste e litoral.

Apesar de os trabalhos já citados envolvendo polinização em espécies de *Cereus* serem muito elucidativos quanto à interação interespecífica, poucos investigaram o sistema de compatibilidade. *Cereus hildmannianus* apresentou autocompatibilidade extremamente restrita, com apenas um fruto formado em testes de autopolinização manual. Em *C.*

fernambucensis, também foi observado compatibilidade restrita, formando 45% dos frutos autopolinizados (Locatelli & Machado, 1999), enquanto *C. repandus* apresentou autoincompatibilidade (Nassar *et al.* 1997). A polinização espontânea e apoximia não ocorrem, assim como nas outras espécies já citadas, indicando a dependência de vetores de polinização para o sucesso reprodutivo da espécie. A compatibilidade restrita é importante para a espécie em situações extremas de ausência do agente polinizador, como o caso observado durante o período atipicamente seco em Porto Alegre, podendo gerar frutos viáveis através da ação de outros visitantes florais que eventualmente podem viabilizar a autopolinização. Contudo, as flores submetidas à polinização natural tiveram uma taxa de frutificação de 70%, o que significa que mesmo com raros indivíduos ativos, a ação dos vetores era suficiente para o sucesso reprodutivo.

3.5 Conclusão

Os resultados obtidos evidenciam que *Cereus hildmannianus* possui uma autocompatibilidade extremamente restrita, priorizando a xenogamia, e é incapaz de frutificar por processos espontâneos ou de apomixia. A espécie é dependente da polinização exclusiva por mariposas Sphingidae. As características florais corroboram a síndrome de polinização e, apesar de a flor ser visitada por outros tipos de insetos, a morfologia acaba por inviabilizar o transporte de pólen por qualquer organismo que não os esfingídeos. A literatura evidencia resultados semelhantes em espécies do mesmo gênero, e, entre as populações de *Cereus hildmannianus* no Rio Grande do Sul, o padrão de estratégias de biologia reprodutiva e de polinização foi idêntico, mostrando uma homogeneidade na evolução floral do grupo e a receptividade a qualquer espécie de esfingídeo.

3.6 Referências bibliográficas

- CARNEIRO, A. M., FARIAS-SINGER, R., RAMOS, R. A., & NILSON, A. D. (2016). Cactos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul.
- CERCEAU, I., SIRIANI-OLIVEIRA, S., DUTRA, A. L., OLIVEIRA, R., & SCHLINDWEIN, C. (2019). The cost of fidelity: foraging oligolectic bees gather huge amounts of pollen in a highly specialized cactus–pollinator association. *Biological Journal of the Linnean Society*, 128(1), 30-43.
- CHAVES, A. S., & ZANIN, E. M. (2012). Etnobotânica em comunidades rurais de origem italiana e polonesa do município de Erechim-RS. *Perspectivas*, 36(133), 95-113.

- CHAVES, E. M., & BARROS, R. F. (2015). Cactáceas: recurso alimentar emergencial no semiárido, Nordeste do Brasil. *Gaia Scientia*, 9(2), 129-135.
- COLAÇO, M. A. D. S. (2006). Etnobotânica dos índios Pankararé, no Raso da Catarina—Bahia: Uso e Importância Cultural de Plantas da Caatinga (Doctoral dissertation, MS thesis, Feira de Santana, Bahia, Brazil).
- DAVET, A., VIRTUOSO, S., DIAS, J. F., MIGUEL, M. D., OLIVEIRA, A. B., & MIGUEL, O. G. (2009). Atividade antibacteriana de *Cereus jamacaru* DC., Cactaceae. *Revista brasileira de farmacognosia*, 19(2B), 561-564.
- DE ALBUQUERQUE, U. P., DE MEDEIROS, P. M., DE ALMEIDA, A. L. S., MONTEIRO, J. M., NETO, E. M. D. F. L., DE MELO, J. G., & DOS SANTOS, J. P. (2007). Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 114(3), 325-354.
- EGGLI, U., & GIORGETTA, M. (2015). Flowering phenology and observations on the pollination biology of South American cacti. 2. *Cereus aethiops*. *Haseltonia*, 2015(21), 19-40.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL. L. (1979). The principles of pollination ecology, 35-45.
- HABER, W. A., & FRANKIE, G. W. (1989). A tropical hawkmoth community: Costa Rica dry forest Sphingidae. *Biotropica*, 155-172.
- IBGE (1986). Levantamento de recursos naturais (Folha SH.22 Porto Alegre e parte das Folhas SH.21 Uruguaiana e SI.22 Lagoa Mirim). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, CD-ROM.
- INMET (2020) Instituto Brasileiro de Meteorologia (INMET). Disponível em: inmet.gov.br.
- KAMAKSHI, K. T., RAVEEN, R., TENNYSON, S., ARIVOLI, S., & REEGAN, A. D. (2015). Ovicidal and repellent activities of *Cereus hildmannianus* (K. Schum.)(Cactaceae) extracts against the dengue vector *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). *Int J Mosq Res*, 2(1), 13-7.
- LINHART, Y. B. & MENDENHALL, J. A. (1977). Pollen dispersal by hawkmoths in a *Lindenis rivalis* Benth. population in Belize. *Biotropica* 9:143.
- LOCATELLI, E. & MACHADO, I. C. S. (1999). Floral biology of *Cereus fernambucensis*: a sphingophilous cactus of the restinga. *Bradleya* 17: 86–94, ill.

- LUCENA, C. M., DA COSTA, G. M., DE SOUSA, R. F., CARVALHO, T. K. N., DE ALMEIDA MARREIROS, N., ALVES, C. A. B. & DE LUCENA, R. F. P. (2012). Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil). *Biotemas*, 25(3), 281-291.
- MIZRAHI, Y. (2014). *Cereus peruvianus* (Koubo) new cactus fruit for the world. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1), 68-78.
- NASSAR, J. M., RAMIREZ, N. & LINARES, O. (1997). Comparative pollination biology of Venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats in their sexual reproduction. *Amer. J. Bot.* 84: 918–927.
- MORÉ, M., BENITEZ-VIEYRA, S., SÉRSIC, A. N. & COCUCCHI, A. A. (2014). Patrones de depósito de polen sobre el cuerpo de los polinizadores en comunidades esfingófilas de Argentina subtropical. *Darwiniana n.s.* 2(1): 174–196.
- PEREIRA, J. L. (2009). Estrutura demográfica e fenologia reprodutiva de *Cereus hildmannianus* K. Schum.(Cactaceae), em uma restinga arbustiva do município de Jaguaruna, Santa Catarina.
- PESCE, L. C. (2011). Levantamento etnobotânico de plantas nativas e espontâneas no RS: conhecimento dos agricultores das feiras ecológicas de Porto Alegre.
- RAMBO, B. (1950). A porta de Torres. *Anais Botânicos do Herbário Barbosa Rodrigues*, 2(2), 125-136.
- ROSAS-GUERRERO, V.; AGUILAR, R.; MARTÉN-RODRÍGUEZ, S., ASHWORTH, L.; LOPEZARAIZA-MIKEL, M.; BASTIDA, J. M. & QUESADA, M. (2014). A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators?. *Ecology letters*, 17(3), 388-400.
- SANTANA, M. C. D.; SANTOS, P. A. A. & RIBEIRO, A. D. S. (2018). Levantamento etnobotânico da família Cactaceae no estado de Sergipe.
- SANTINI, E. (1976). Aspectos da vegetação arbórea no Estado do Rio Grande do Sul. Santa Maria: UFSM.
- SCOGIN, R. (1985). Nectar constituents of the Cactaceae. *The Southwestern Naturalist*, 77-82.

- SILVA, G. A. R.; ANTONELLI, A., LENDEL, A.; MORAES, E. D. M. & MANFRIN, M. H. (2018). The impact of early Quaternary climate change on the diversification and population dynamics of a South American cactus species. *Journal of Biogeography*, 45(1), 76-88.
- SILVA, W. R. & SAZIMA, M. (1995). Hawkmoth pollination in *Cereus peruvianus*, a columnar cactus from southeastern Brazil. *Flora* 190: 339–343.
- SORIANO, P. J. & RUIZ, A. (2002). The role of bats and birds in the reproduction of columnar cacti in the Northern Andes. In: Fleming, T. H. & Valiente-Banuet, A. (eds.): *Columnar cacti and their mutualists*; pp. 241-263. Tucson (US: AZ): University of Arizona Press.
- TAYLOR, N. P., & ZAPPI, D. C. (1989). An alternative view of generic delimitation and relationships in tribe Cereeae (Cactaceae). *Bradleya*, 1989(7), 13-40.
- TAYLOR, N. P. & ZAPPI, D. C. (2004). *Cacti of eastern Brazil*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- VOGEL, S. (1990). Radiación adaptativa del síndrome floral en las familias neotropicales. *Bol. Acad. Nac. Cien. Córdoba Argentina* 59: 4–30.
- ZAPPI, D.; FILARDI, F. L. R.; LEITMAN, P.; SOUZA, V. C.; WALTER B. M.; PIRANI, J. R. & FORZZA, R. C. (2015) Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, 66(4),1085-1113.

4. CAPÍTULO 3 – INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Cereus hildmannianus* K. SCHUM. (CACTACEAE) EM DIFERENTES POPULAÇÕES DO RIO GRANDE DO SUL (BRASIL)

Artigo a ser submetido no periódico *Acta Botanica Brasilica*. Este capítulo está estruturado seguindo as normas de formatação referente ao respectivo periódico, exceto o alinhamento de texto e a edição das imagens e tabelas.

Temperature requirements for *Cereus hildmannianus* K. Schum. (Cactaceae) seeds from different localities in Rio Grande do Sul, Brazil.

Becker, R.^{1,3}; Dal Ri, L.²; Farias-Singer R².; Singer, R. B.¹

¹ Department of Botany of Federal University of Rio Grande do Sul

² Porto Alegre Botanical Garden, Rio Grande do Sul

³Author for correspondence: becerr92@gmail.com

4.1 ABSTRACT

Cereus hildmannianus K. Schum., popularly known as “tuna”, is a columnar cactus which occurs in Argentina, Uruguay, Paraguay and adjacent southern and south-eastern Brazil. The species has medicinal properties and its fruits are locally appreciated and eventually used as food, but it is not cultivated as yet. Therefore, current uses rely solely on plants collected from the wild. For this reason, knowing its germination requirements would be a useful and necessary step preceding any attempts of proper management and eventual domestication. Thus, this study has the objective to test seed germination in samples collected in different localities of Rio Grande do Sul State, Southern Brazil (Porto Alegre, Caçapava do Sul and Santiago). Seeds were exposed at temperatures of 20° C, 25° C, 30° C and room temperature. Germinability, average germination time and synchronization indexes were measured to identify the maximum efficiency. All samples showed high germination percentages ($\geq 90\%$) at 20° C and 25° C. We found best performances at temperature of 25° C for seeds from Santiago and Caçapava do Sul, as well as for germinability ($F = 2.906$ and $F = 15.111$, respectively) and average time ($F = 12.283$ and $F = 8.162$, respectively). Seeds from

Porto Alegre had not statistically significant difference for any index ($p > 0.05$), but showed maximum germinability, indicating a superior vigor when compared to the samples from other localities. In addition, the germination process, the seed and the seedling are described and documented.

Key words: germination; germinability; germination average time; synchronization; tuna.

4.2 INTRODUCTION

Cereus hildmannianus K. Schum., known as tuna, is a species of columnar and arborescent cactus which occurs in Paraguay, Southern Brazil, Uruguay and Argentinean Pampa grassland (Taylor & Zappi, 2004). The species is a potential crop, with its fruits eventually used as food (Pesce, 2011) or its cladodes as a medicinal resource (Chavez & Zanin, 2011). The tuna mucilage has insecticidal properties, and can – for example – be used to control the larvae of *Aedes aegypti* (Culicidae) (Kamakshi *et al.*, 2015). Nevertheless, the “tuna” is scarcely mentioned in ethnobotanic studies; unlike other species of the same genus, as *Cereus albicaulis* Britton & Rose (Chaves *et al.*, 2015; Silva, 2015), *C. jamacaru* DC. (De Albuquerque *et al.*, 2007; Lucena *et al.*, 2012; Santana *et al.*, 2018) and *C. peruvianus* (L.) Mill. (Pasa *et al.*, 2005; Carneiro *et al.*, 2014; Mizrahi, 2014). Since many Cactaceae show high degree of parallel evolution in vegetative and floral morphology, hence these characteristics become in convergence of uses (Barthlott & Hunt, 1993). In other words, plants of *C. hildmannianus* could be as useful as the species cited above; thus becoming an important and useful resource for the native human populations.

“Tuna” occurs throughout the State of Rio Grande do Sul State, in its two Biomes (Pampa and Mata Atlântica) and in all its different environments, such as coastline, rainforest and grasslands (Carneiro *et al.*, 2016). Two subspecies are recognized: *Cereus hildmannianus* subsp. *hildmannianus*, is restricted to southern Brazil coastline and around Lagoa dos Patos; and *Cereus hildmannianus* subsp. *uruguayanus*, that occurs in western Rio Grande do Sul and Santa Catarina States and throughout Paraná State. Morphological differences can be observed between floral tube lengths. In *C. hildmannianus* subsp. *hildmannianus* it can reach over 20 cm, while in *C. hildmannianus* subsp. *uruguayanus* reaches up to 16 cm (Becker, data not published). This is supported by a recent study of “tuna” phylogeography that evidenced a vicariance process, sorting out the populations of the two subspecies, probably due to

environment changes in Quaternary period (Silva *et al.*, 2018) and match with variability of floral tube length observed.

Cereus hildmannianus can reproduce vegetatively (this is, through vegetative reproduction) or sexually, through seeds produced via pollination. This second way becomes useful because enables genetic enhancement through the mixing of different variants and the selection of individuals with characteristics most appreciated, such as productivity, shape of fruits and climatic adaptations (Rech *et al.*, 2014). Besides that, Cacti have always been subject of intensive exploitation due to their great ornamental value and. As a result, their populations have been drastically affected by overcollection and others anthropogenic perturbations like mining and cattle raising (Rojás-Aréchiga & Vasquez-Yanes, 2000). Nowadays, Rio Grande do Sul state holds 68 species of Cacti (Flora do Brasil, 2020), representing about 30% of the Brazilian Cactaceae richness. Indeed, 53 of these species are considered endangered following the IUCN guidelines (Carneiro *et al.*, 2016). Propagation studies could constitute a contribution to the conservation of this natural resource, because promotes the possibility of obtaining valuable plants through controlled methods that could decrease the demand for illegal wild-collected material (Rojás-Aréchiga & Vasquez-Yanes, 2000). Thus, studies involving reproduction and germination are needed in order to understand the best strategies for conservation-wise or economic-wise management, like in *C. peruvianus*, a fruit-crop marketed in Israel and that needed several studies regarding its ideal germination conditions (Ninio *et al.*, 2003; Mizrahi, 2014).

An important factor in germplasm development is temperature; which is essential to understand ecophysiological and biochemical features by which species are adapted to environment (Labouriau, 1983; Ferreira & Borghetti, 2004). So, temperature rules the germplasm capacity and breaks or induces dormancy (Bewley & Black, 1994), in addition it affects the speed and synchronicity of germination (Carvalho & Nakagawa, 2000). These parameters are important for comparing germination of different seeds and to measure their respective performances.

The aims of this study, therefore, are to evaluate how temperature affects *C. hildmannianus* germination in seeds collected from different localities, find the optimum temperature for germination and compare the vigour between populations.

4.3 METHODS

We used *C. hildmannianus* seeds of fruits from Porto Alegre (30°14'10.3"S 51°05'57.9"W), Santiago (29°29'57.3"S 54°43'38.2"W) and Caçapava do Sul (30°39'04.9"S 53°34'34.9"W). Silva *et al.* (2018) have shown through molecular analyses a vicariance process in *C. hildmannianus* populations on southern Brazil after climate changes in Quaternary period, originate two main clades. With this information as a framework, we collected fruits from sampled populations of each haplotypes and an intermediate population to guarantee genetic diversity on germination tests. So, Porto Alegre represents long floral tube lineage, while Santiago represents short floral tube lineage. Caçapava do Sul was considered as intermediate population. The fruits were collected in March and April 2019.

Tests were made at the Seed Bank Laboratory of the Porto Alegre Botanical Garden. We collected five fruits from each locality, totalizing 15 fruits. We took the fruits dimensions and counted the number of seeds per fruit. Seeds were washed in tap water and dried in filter paper overnight. The storage was made in polyethylene bags during 7 days, at room temperature.

After this, seeds were kept in plastic box Gerbox with blotting paper moistened with 10 mL of deionized water. Each box received 25 seeds, with 4 replications for each locality. We performed three treatments: in germinator (Tecnal TE-4020 LED) under constant temperature of 20° C, 25° C and 30° C, with photoperiod of 12h, in all cases. A control test was made in room temperature, with natural photoperiod. Germinated seeds were counted daily, using a stereomicroscope. Seeds that emitted a visible hypocotyl-root axis were considered germinated.

Indexes calculated after final count were germinability ($G = N_g \cdot 100/N_t$, where N_g is the number of germinated seeds and N_t is the number of total seeds); average germination time ($T = \sum n_i \cdot t_i / \sum n_i$, where t_i is average incubation time and n_i is the Number of seeds germinated daily) (Edmond & Drapalla 1958); and synchronization of germination ($S = -\sum f_i \cdot \log_2 f_i$, where f_i is relative germination frequency) (Labouriau & Valadares, 1976). Final index values were compared in one-way ANOVA followed by Tukey's significant difference test at 5%. All statistical analyses were carried out using the software RStudio 1.2.1 (Allaire, 2012).

4.4 RESULTS

Ripe fruits are of the acrosarcum type and measure 6.5 ± 0.73 cm in average diameter and 8.1 ± 1.5 cm in length ($n = 15$) with a globular to elliptical-shape. The epicarp is smooth, a little shiny and yellowish or redish (Figure 1A). The endocarp is white, fleshy and edible, with hundreds of very small seeds (Figure 1B). A fruit can have between 500 and 1000 seeds (mean 787.7 ± 238.3 ; $n = 15$) which are darkish and campylotrope, kidney-shaped and bitegumented. The testa is ornate and the hilum shows a micropilar depression (Figure 2A). Germination begins between days 4-8 and proceeds for about a week. A seed was considered germinated when the hypocotyl-root axis protruded from the hilum break (Figure 2B).

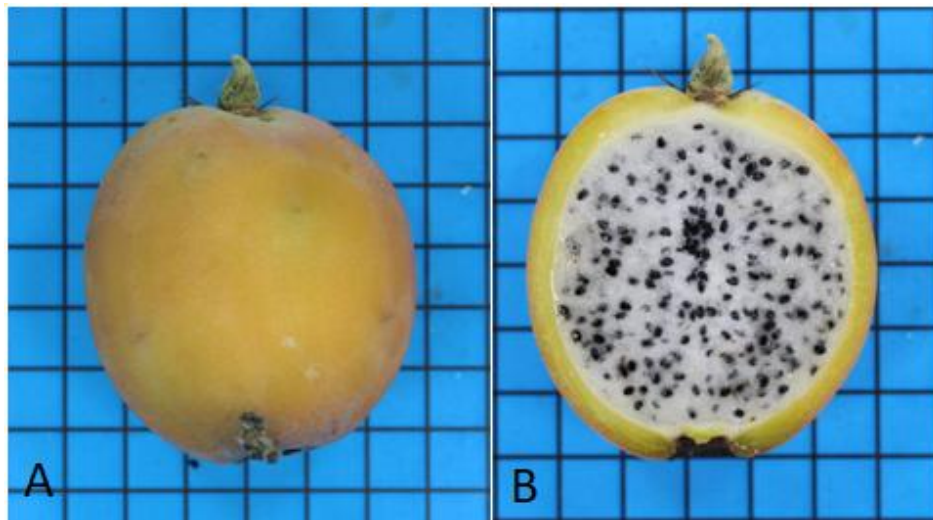


Figure 1: *Cereus hildmannianus* ripe fruit (A); transversal cut of *Cereus hildmannianus* ripe fruit, showing the edible endocarp and countless seeds (B). Scale: 1 cm.

Seedlings are initially white and short, conical cotyledons are visible on day 10, when the hypocotyl is completely straight. Later, seedlings are greenish and typically columnar-shaped, about 2 cm tall (Figure 2C). Trichome and areole emission takes place around the 20th day, when cotyledons disappear and the epicotyl becomes very developed (Figure 2D).

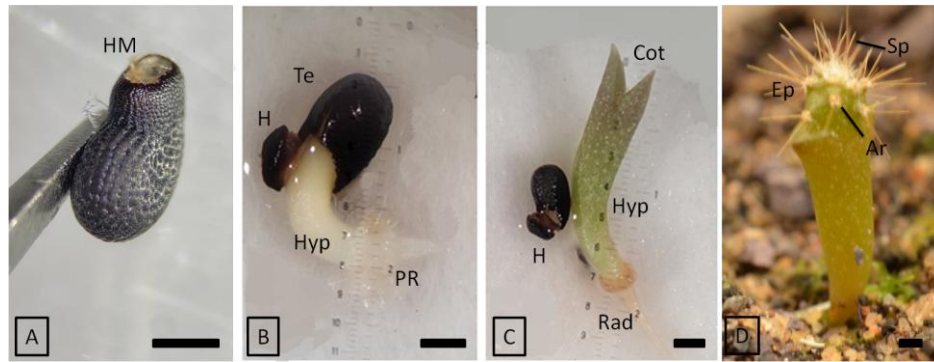


Figure 2: *Cereus hildmannianus* seed germination stages. A: seed general aspect, with hilum micropilar hilum and ornate testa; B: day 4 – emission of hypocotyl-root axis; C: day 10 – chlorophyll seedling with visible cotyledon; D: day 20 – established seedling with areole and spines. Subtitles: HM (micropilar hilum); H (hilum); Te (testa); Hyp (hypocotyl); PR (primordial root); Cot (cotyledon); Ep (epicotyl); Rad (rootlet); Ar (areole); Sp (spine). Scale: 1mm.

Germinability was considered high in all tests, since at 20° C and 25°C all localities reached over 90%. At 30° C, seeds from Santiago and Caçapava do Sul showed significantly lower than others treatments, and Porto Alegre seeds showed an excellent germinability, reaching to 98% (Table 1).

Table 1: Mean average germination time (T), germinability (G) and synchronization (S) values of seeds collected in Porto Alegre, Santiago and Caçapava do Sul at control, 20° C, 25° C and 30° C. Values with the same letter in a single column do not statistically in the Tukey's test at 5%.

	Temperature (°C)	T	G	S
Porto Alegre	Control	10,391a	84 a	1,416 a
	20	9,860 a	99 a	1,996 a
	25	8,091 a	100 a	1,878 a
	30	8,890 a	98 a	1,255 a
Santiago	Control	12,091a	87 a	1,042 a
	20	8,330 b	99 a	2,222 b
	25	7,858 b	100 a	1,787 a
	30	8,857 b	82 b	1,953 c
Caçapava do Sul	Control	9,925 a	84 a	1,678 a
	20	9,494 a	93 a	2,223 b
	25	6,545 b	99 a	0,928 c
	30	8,730 a	63 b	2,170 b

Germination time is significantly shorter at 25° C for seeds from Caçapava do Sul and Santiago compared to control treatment, showing that this temperature might accelerate germination process (Table 1). Synchronization shows low values at 25° C, in seeds from Caçapava do Sul and Santiago, compared to the values obtained at 20° C and 30° C, respectively.

All indexes calculated for Porto Alegre seeds had p-value higher than 0.05 (Table 2). Although, results from Caçapava do Sul and Santiago have differences identified for all indexes measured. Similar results in each index were identified with Tukey's test and are represented with same letters in Table 1.

Table 2: ANOVA of average germination time (T), germinability (G) and synchronization (S) values of seeds collected in Porto Alegre, Santiago and Caçapava do Sul.

	Variable	F [3,12]	p-Value
Porto Alegre	T	0,828	0,51
	G	1,679	0,224
	S	2,906	0,078
Santiago	T	12,283	0,002
	G	2,906	0,018
	S	7,964	0,003
Caçapava do Sul	T	8,162	0,008
	G	15,111	< 0,001
	S	10,448	0,001

4.5 DISCUSSION

Morphological characterization is very important for taxonomy in Cactaceae. For instance, the patterns of testa ornatation have been proven taxonomically informative within the species of *Stenocereus* genera (Arroyo-Cosultchi *et al.*, 2006). However, details about the seeds of native Brazilian cacti (and their potentially informative characters) are scarce in the literature. Abud *et al.* (2013) described the fruits of *Cereus jamacaru* with very similar

dimensions with these of in *C. hildmannianus*, yet bearing a higher number of seeds (mean 1439 +/- 189.78; vs. 787.7 +/- 238.3 in *C. hildmannianus*). Morphologically, the seeds of *C. jamacaru* were characterized as being darkish kidney-shaped and bitegumented (Abud *et al.* 2013), in agreement with the characters herein observed for *C. hildmannianus*. *Cereus jamacaru* embryo, as in *C. hildmannianus*, occupies almost the whole space inside the seed, a common characteristic in Cactaceae (Carneiro *et al.*, 2016). The presence of an ornate testa was also observed in *C. jamacaru* (Abud *et al.*, 2013) and probably both species have its specific patterns, but we are unaware of such studies for *Cereus* species. As a whole, fruit size, shape and seed features of *C. hildmannianus* are similar to these of *C. jamacaru* (Abud *et al.*, 2013) or these of *C. peruvianus* (Mizhari, 2014; Ninio *et al.*, 2003). Yet, up to date, only *C. jamacaru* was studied in depth regarding seed features, germination and seedling features and early development (Abud *et al.*, 2013). All in all, seedling features (overall shape and morphology) as well as early plant development are quite similar to these reported for *C. jamacaru* (Abud *et al.*, 2013).

High germination rates (over 90%) were observed in all samples of *C. hildmannianus* treated at 20° C and 25° C, in agreement with the data already reported for *C. jamacaru*, that showed 89% of germinated seeds at 25° C (Abud *et al.*, 2013). Shorter values in germination time were identified at 25° C in all localities, with statistical differences between the Control treatments among the samples from Santiago and Caçapava do Sul. In practical terms, this means that germination is faster and more efficient while temperature is higher until a certain limit (Bewley & Black, 1994). In fact, during this experiment, at 25° C; whereas a decrease in speed was observed at 30° C. Average germination time is an important variable because seeds that take a long time to germinate are usually more susceptible to diseases (Scremin-Dias *et al.*, 2006) or may lose the climatic opportunity to grow, thus germination time can be used as a vigour indicative.

Unlike others indexes, synchronization showed the lower values at 25° C, in relation to 20° C and 30° C. These results are similar to these found in *Cereus fernambucensis* Lem. (Socolowski *et al.*, 2010), *Pereskia aculeata* Mill. e *Pereskia grandifolia* Haw. (Souza *et al.*, 2016). Authors related the same decrease of synchronization between 25° C and 30° C. Lower values for synchronization at this range should indicate an influence of external environmental factors, also reflecting in higher germinability and germination speed (Labouriau & Osborn, 1984). According to Souza *et al.* (2016), above and below this range, synchronization values increase. Synchronization implies the establishment of a great number

of seedlings with a better chance of survival. However, low synchronization could allow the species to germinate all seeds in a long time gap, avoiding a possible loss of all offspring in an eventual extreme weather event.

All variables in Porto Alegre samples showed not significant differences between under different temperatures. Germinability was over 98% independent of temperatures, the best performance compared to the other localities. In addition to synchronization indexes in Porto Alegre seeds germination was lower in each treatment compared with others populations, indicating this population has the best vigour among the tested samples. As showed for seeds from Caçapava do Sul and Santiago, lower synchronization can be interesting for species where seed germination occurs for a long range of time, revealing its capacity to adapt in different environmental conditions that many vary during a year. In Southern Brazil seasons are very marked, with a hot wet summer and a cold dry winter and all temperatures can be favourable to germination in species adapted to such conditions.

In general, the results found for seeds collected in Santiago and Caçapava do Sul were similar to these of other columnar cacti, such as *Pachycereus hollianus* (F.A.C. (Weber) Buxb., *Cephalocereus chrysacanthus* (Weber) Britton & Rose, *Neobuxbaumia tetetzo* (Coul.) Backeb. (Rojas-Aréchiga *et al.*, 1998), *Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxb. (De la Barrera & Nobel, 2003) *Trichocereus terscheckii* (Pfeiff.) Britton & Rose (Ortega-Baes & Rojas-Aréchiga, 2007), *Cereus fernambucensis* Lem. (Socolowski *et al.*, 2010), *Pilosocereus pachycladus* Ritter (Abud *et al.*, 2010), *C. jamacaru* DC (Meiado *et al.*, 2010; Abud *et al.*, 2013), *Pilosocereus aurisetus* (Werderm.) Byles & GD Rowley (Reis *et al.*, 2012), e *Melocactus sergipensis* Taylor & Meiado (Filho *et al.*, 2019). In these studies, species showed high germinability and average germination time values within a wide temperature range, with the optimal temperatures always between 20° C and 25° C. As a rule, indexes normally decrease at temperatures near 30° C, except in *Pilosocereus gounellei* (Weber) Byles & G.D. Rowley (Abud *et al.*, 2012), which showed optimum germinability at this temperature. According to Meiado *et al.* (2010), the decrease of germinability at extreme temperatures may have an ecological importance, due to low seedlings survival at these conditions. Even when “tuna” presented a peak of germinability and germination speed at 25° C, the values found at 20° C and 30° C were also high, indicating that this species has a favourable wide temperature range for germination.

Most Cactaceae seeds have a good germination response over large temperature gradients, with optimal temperature usually around 25° C (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes,

2000). This broad gradient is characteristic of species adapted to semi-arid environments, as a rapid germination indicates the ease of forming seedlings at different temperatures, thus increasing the chance of survival compared to species with closer cardinal temperatures (Souza *et al.*, 2016).

4.6 CONCLUSION

Cereus hildmannianus seeds have optimum germination temperature at 25° C, showing higher values of germinability and average germination time at this temperature, as well as a slight decrease in synchronization, which can be understood as an adaptation to germination over long periods of time. In addition, seeds collected in Porto Alegre were close to maximum germinability and showed no statistical differences between temperature treatments, which means that this population has higher vigour than seeds collected in Santiago and Caçapava do Sul. Species with large geographic distribution are also related to a large temperature range, due to adaptations to different climates in which species may occur (Larcher, 2000). *Cereus hildmannianus* is a species that occurs in southern and south-eastern Brazil, Uruguay and the Argentine Pampas, a fact that indicates the ability to develop under different conditions. In agreement, the data herein recovered for germination rates under different conditions supports that *C. hildmannianus* is highly adaptable, a fact that not only explains its wide distribution, but also points that this cactus should not be problematic for cultivation and domestication purposes.

4.7 ACKNOWLEDGMENTS

We acknowledge the Federal Agency for Supporting and Evaluation of Graduate Education (CAPES) for the financial support (n° 88882.439443/2019-01) of and the Porto Alegre Botanical Garden for support all structure and equipment that made possible this study.

4.8 REFERENCES

- ABUD, H. F., GONÇALVES, N. R., REIS, R. D. G. E., PEREIRA, D. D. S., & BEZERRA, A. M. E. (2010). Germinação e expressão morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pilosocereus pachycladus* Ritter. *Revista Ciência Agronômica*, 41(3), 468-474.
- ABUD, H. F., GONÇALVES, N. R., PEREIRA, M. D. S., PEREIRA, D. D. S., REIS, R. D. G. E., & BEZERRA, A. M. E. (2012). Germination and morphological characterization of the

- fruits, seeds, and seedlings of *Pilosocereus gounellei*. *Brazilian Journal of Botany*, 35(1), 11-16.
- ABUD, H. F., PEREIRA, M. D. S., GONÇALVES, N. R., PEREIRA, D. D. S., & BEZERRA, A. M. E. (2013). Germination and morphology of fruits, seeds and plants of *Cereus jamacaru* DC. *Journal of Seed Science*, 35(3), 310-315.
- ALLAIRE, J. (2012). RStudio: integrated development environment for R. Boston, MA, 770.
- ARROYO-COSULTCHI, G., TERRAZAS, T., ARIAS, S., & ARREOLA-NAVA, H. J. (2006). The systematic significance of seed morphology in *Stenocereus* (Cactaceae). *Taxon*, 55(4), 983-992.
- BARTHLOTT, W., & HUNT, D. R. (1993). Cactaceae. In *Flowering plants. Dicotyledons* (pp. 161-197). Springer, Berlin, Heidelberg.
- BEWLEY, J. D., & BLACK, M. (1994). Dormancy and the control of germination. In *Seeds* (pp. 199-271). Springer, Boston, MA.
- CARNEIRO, M. R. B., & dos SANTOS, M. L. (2014). Importância relativa de espécies com potencial uso medicinal na flora do Centro Oeste do Brasil. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, 3(2), 145-163.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. (2000). Sementes: ciência, tecnologia e produção. Jaboticabal: FUNEP, p.98-118.
- CHAVES, A. S., & ZANIN, E. M. (2012). Etnobotânica em comunidades rurais de origem italiana e polonesa do município de Erechim-RS. *Perspectivas*, 36(133), 95-113.
- CHAVES, E. M., & BARROS, R. F. (2015). Cactáceas: recurso alimentar emergencial no semiárido, nordeste do Brasil. *Rev Gaia Sci*, 9(2), 129-135.
- DE ALBUQUERQUE, U. P., DE MEDEIROS, P. M., DE ALMEIDA, A. L. S., MONTEIRO, J. M., NETO, E. M. D. F. L., DE MELO, J. G., & DOS SANTOS, J. P. (2007). Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 114(3), 325-354.
- DE LA BARRERA, E., & NOBEL, P. S. (2003). Physiological ecology of seed germination for the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis*. *Journal of Arid Environments*, 53(3), 297-306.

- EDMOND, J.B. & DRAPALA, W.J. 1958. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 71:428-434.
- FERREIRA, A. G., & BORGHETTI, F. (2004). *Germinação: do básico ao aplicado* (p. 323). Porto Alegre: Artmed.
- FILHO, E. S., DE SANTANA, M. C., SANTOS, P. A. A., & DE SOUZA, R. A. (2019). Germinação e aclimatização de *Melocactus sergipensis* Taylor & Meiado. *Iheringia. Série Botânica*, 74.
- FLORA DO BRASIL 2020 em construção (2020). Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 15 abr. 2020.
- KAMAKSHI, K. T., RAVEEN, R., TENNYSON, S., ARIVOLI, S., & REEGAN, A. D. (2015). Ovicidal and repellent activities of *Cereus hildmannianus* (K. Schum.)(Cactaceae) extracts against the dengue vector *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). *Int J Mosq Res*, 2(1), 13-7.
- LABOURIAU, L. G., & VALADARES, M. B. (1976). On the physiology of seed of *Calotropis procera*. *Anais da Academia Brasileira de Ciência*. Rio de Janeiro, 42(2), 235-264.
- LABOURIAU, L. G. (1983). A germinação das sementes (No. 581.1 LAB).
- LABOURIAU, L. G., & Agudo, M. (1987). On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* LI Temperature effects. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 59(1), 37-56.
- LABOURIAU, L. G., & OSBORN, J. H. (1984). Temperature dependence of the germination of tomato seeds (No. RESEARCH).
- LARCHER, W. (2000). *Ecofisiologia vegetal*. Ed. Rima, São Carlos.
- LUCENA, C. M., DA COSTA, G. M., DE SOUSA, R. F., CARVALHO, T. K. N., DE ALMEIDA, MARREIROS, N., ALVES, C. A. B. & DE LUCENA, R. F. P. (2012). Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil). *Biotemas*, 25(3), 281-291.
- MEIADO, M. V., DE ALBUQUERQUE, L. S. C., ROCHA, E. A., ROJAS-ARÉCHIGA, M., & LEAL, I. R. (2010). Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. *Plant Species Biology*, 25(2), 120-128.

- NINIO, R., LEWINSOHN, E., MIZRAHI, Y., & SITRIT, Y. (2003). Quality attributes of stored koubo (*Cereus peruvianus* (L.) Miller) fruit. *Postharvest biology and technology*, 30(3), 273-280.
- MIZRAHI, Y. (2014). *Cereus peruvianus* (Koubo) new cactus fruit for the world. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1), 68-78.
- ORTEGA-BAES, P., & ROJAS-ARÉCHIGA, M. (2007). Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): light, temperature and gibberellic acid effects. *Journal of arid Environments*, 69(1), 169-176.
- PASA, M. C., SOARES, J. J., & GUARIM, G N. (2005). Estudo etnobotânico na comunidade de Conceição-Açu (alto da bacia do rio Aricá Açu, MT, Brasil). *Acta Botanica Brasilica*, 19(2), 195-207.
- PESCE, L. C. (2011). Levantamento etnobotânico de plantas nativas e espontâneas no RS: conhecimento dos agricultores das feiras ecológicas de Porto Alegre. Disponível em <<http://hdl.handle.net/10183/35329>>.
- RECH, A. R., AGOSTINI, K., OLIVEIRA, P. E., & MACHADO, I. C. (2014). *Biologia da Polinização*. Projecto Cultural.
- REIS, M. V. D., PÊGO, R. G., PAIVA, P. D. D. O., ARTIOLI-COELHO, F. A., & PAIVA, R. (2012). In vitro germination and post-seminal development of plantlets of *Pilosocereus aurisetus* (Werderm.) Byles & GD Rowley (Cactaceae). *Revista Ceres*, 59(6), 739-744.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M., VÁZQUEZ-YANES, C., & OROZCO-SEGOVIA, A. (1998). Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms: an ecophysiological interpretation. *Plant Ecology*, 135(2), 207-214.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M., & VÁZQUEZ-YANES, C. (2000). Cactus seed germination: a review. *Journal of arid environments*, 44(1), 85-104.
- SANTANA, M. C. D., SANTOS, P. A. A., & RIBEIRO, A. D. S. (2018). Levantamento etnobotânico da família Cactaceae no estado de Sergipe.
- SILVA, G. A. R., ANTONELLI, A., LENDEL, A., MORAES, E. D. M., & MANFRIN, M. H. (2018). The impact of early Quaternary climate change on the diversification and population dynamics of a South American cactus species. *Journal of biogeography*, 45(1), 76-88.

- SILVA, V. A. (2015). Diversidade de uso das cactáceas no nordeste do Brasil: uma revisão. *Rev Gaia Scie*, 9(2), 137-154.
- SCREMIN-DIAS, E., KALIFE, C., MENEGUCCI, Z. R. H., & SOUZA, P. R. D. (2006). Produção de mudas de espécies florestais nativas: manual. Campo Grande: UFMS.
- SOCOLOWSKI, F., VIEIRA, D. C. M., SIMÃO, E., & TAKAKI, M. (2010). Influence of light and temperature on seed germination of *Cereus fernambucensis* Lemaire (Cactaceae). *Biota Neotropica*, 10(2), 53-56.
- SOUZA, L. F., GASPARETTO, B. F., LOPES, R. R., & BARROS, I. B. (2016). Temperature requirements for seed germination of *Pereskia aculeata* and *Pereskia grandifolia*. *Journal of thermal biology*, 57, 6-10.
- TAYLOR, N. P., & ZAPPI, D. C. (2004). *Cacti of eastern Brazil*. Royal Botanic Gardens, Kew.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As observações relatadas nesse trabalho evidenciam que, apesar de a morfologia floral de Cactaceae obedecer a certo padrão característico, a diversidade apresentada entre as subdivisões da família influi nas relações interespecíficas de polinização e estratégias reprodutivas. A hipótese de que *Pereskia aculeata*, por estar filogeneticamente em posição cedodivergente, apresentaria um comportamento atrativo mais generalista, enquanto *Cereus hildmannianus*, por estar numa posição filogenética mais derivada, teria flores especializadas, acabou comprovando-se através de nossas observações. *Pereskia aculeata* é predominantemente polinizada por abelhas nativas da tribo Meliponini, porém frequentemente atrai outros grupos de abelhas, coleópteros e vespas. Apesar de ser receptiva de uma forma generalista, todas espécies buscavam o pólen como principal recurso floral, com exceção de lepidópteros, mostrando ser especialista do ponto de vista ecológico. Em contrapartida, *Cereus hildmannianus* possui uma flor adaptada exclusivamente à polinização por Sphingidae. A forma infundibuliforme com o tubo floral estreito e longo faz com que o néctar seja acessível apenas a lepidópteros, e a antese noturna restringue a visitação apenas aos esfingídeos.

Ambas as espécies estudadas possuem ciclos de vida longos com grande produção de flores, como esperado para cactos de hábitos arborescentes e arbustivos. Por conta dessa característica, é esperada uma tendência à autoincompatibilidade, contrastando com espécies de ciclo de vida curto e pouca produção de flores, que precisam ser autocompatíveis a fim de garantir o sucesso reprodutivo. *Cereus hildmannianus* é praticamente autoincompatível, sendo observada a formação de um único fruto autogâmico nos testes de polinização manual. Por outro lado, *Pereskia aculeata*, contrariando a hipótese inicial, é autocompatível, formando 78% dos frutos autopolinizados manualmente, e mostrando incompatibilidade parcial apenas em cruzamentos xenogâmicos entre morfotipos diferentes, com formação de 66% de frutos contra 100% de formação em frutos xenogâmicos com o mesmo morfotipo.

As sementes *Cereus hildmannianus*, assim como outras espécies de Cactaceae, tiveram o ótimo de germinação aos 25° C, porém também tiveram boa germinabilidade em outras temperaturas testadas, mostrando que a espécie é tolerante a uma boa faixa de temperatura, o que condiz com sua larga distribuição natural. Além disso, as sementes provindas de Porto Alegre obtiveram melhor performance de germinação em todos os índices testados, concluindo que essa população tem o vigor superior comparado às sementes oriundas de Caçapava do Sul e Santiago.

Os resultados obtidos nesse estudo contribuem para o melhor entendimento da biologia reprodutiva dessas espécies que possuem potencial econômico, principalmente como alternativa alimentar. Apesar de não serem espécies classificadas em algum grau de ameaça, esses estudos também contribuem para traçar melhor as estratégias conservacionistas, pois o entendimento das relações interespecíficas entre plantas e polinizadores nos ajudam a compreender o grau de dependência ecológica entre elas e vislumbrar de que maneira os impactos podem afetar essas relações. A expansão de estudos nessa área é fundamental para o melhor gerenciamento de populações naturais e/ou cultivadas.