



Seleção sexual pós-copulatória em *Clitoria fairchildiana* (Fabaceae)

Janiele P. da Silva, Lucas M. Vivot, Lucas P. de Medeiros & Paula Z. Girollo

RESUMO: Mecanismos pós-copulatórios podem atuar reduzindo as chances de encontro entre gametas e influenciar a probabilidade de fecundação e de aborto seletivo de embriões. Leguminosas apresentam ovário com disposição contínua de óvulos e óvulos mais próximos ao pecíolo devem receber um maior aporte de nutrientes. Contudo, esses óvulos também devem apresentar uma maior dificuldade de fecundação pelos tubos polínicos. Nosso objetivo foi testar se o óvulo de maior qualidade tem maior probabilidade de não ser fecundado e se o óvulo fecundado de menor qualidade tem maior probabilidade de ser abortado. Coletamos vagens de 16 indivíduos de *Clitoria fairchildiana* e calculamos a distância relativa ao pecíolo de óvulos não fecundados e sementes abortadas. Óvulos não fecundados foram mais frequentes próximos ao pecíolo e sementes abortadas foram mais frequentes em locos mais distantes do pecíolo. Nossos resultados sugerem que existem mecanismos pós-copulatórios gerando seleção sexual direcional na planta modelo.

PALAVRAS-CHAVE: aborto seletivo, competição espermática, escolha críptica da fêmea, leguminosa, produção de frutos, sementes.

INTRODUÇÃO

A seleção sexual é um processo evolutivo que depende da vantagem que certos indivíduos têm sobre outros coespecíficos do mesmo sexo em relação à reprodução (Darwin, 1871). De maneira geral, existe uma assimetria na produção de gametas entre indivíduos de sexos diferentes, na qual indivíduos de um dado sexo produzem gametas maiores e em menor quantidade, enquanto indivíduos do outro sexo produzem um maior número de gametas de menor tamanho (Krebs & Davies, 1993). O investimento diferencial em gametas é um dos principais mecanismos que determinam a competição intra-sexual, geralmente entre os indivíduos que produzem os gametas menores e mais numerosos, e também a seleção inter-sexual, geralmente exercida pelo indivíduo que produz gametas maiores e menos numerosos (Dugatkin, 2009).

Os mecanismos de seleção sexual podem ser divididos em pré-copulatórios e pós-copulatórios (Eberhard, 2015). Os dois principais mecanismos pré-copulatórios são o combate físico entre machos ou a seleção criteriosa dos parceiros pela fêmea, ambos baseados na qualidade de atributos sexuais dos machos (Scott, 2015). Após a fecundação, dois mecanismos análogos aos mecanismos pré-copulatórios podem determinar o sucesso reprodutivo dos indivíduos: a competição espermática e a escolha críptica da fêmea (Eberhard, 2009). A competição espermática é a disputa entre gametas masculinos para fecundar os óvulos após a cópula (Eberhard,

2015). Já a escolha críptica da fêmea, compreende, por exemplo, alterações morfológicas ou fisiológicas no trato reprodutivo da fêmea que selecionam os gametas masculinos que irão fecundar os óvulos (Eberhard, 2009, 2015). A escolha críptica da fêmea é uma estratégia vantajosa, pois permite que fêmeas copulem com diferentes machos e direcionem a paternidade de sua prole para indivíduos de maior qualidade, maximizando seu sucesso reprodutivo (Eberhard, 2015).

Tanto a competição espermática quanto a escolha críptica da fêmea podem exercer pressões seletivas em direções opostas em machos e fêmeas, gerando mudanças fenotípicas contrastantes entre os sexos (Eberhard, 2009). Quando a escolha críptica da fêmea é fraca ou quando há baixa competição espermática, existe um aumento na probabilidade de que todos os óvulos sejam fecundados. Contudo, isso também pode levar a um aumento na chance de ocorrer fecundação dos óvulos por espermatozoides de baixa qualidade. No cenário oposto, quando as fêmeas são muito seletivas ou quando há alta competição espermática, espera-se que os gametas masculinos de baixa qualidade sejam ineficientes na fecundação, reduzindo o número de embriões formados (Marshall & Grace, 1992; Eberhard, 2009).

A seleção sexual pós-copulatória pode ocorrer não apenas em animais, mas também em plantas

(Eberhard, 2009). Leguminosas que produzem frutos do tipo vagem possuem ovário com óvulos em disposição contínua e parietal ao longo do eixo vertical do ovário. Essa disposição pode gerar um gradiente de dificuldade de fecundação dos óvulos, com os óvulos mais distantes da entrada do ovário sendo os mais difíceis de serem fecundados. Dessa forma, esse gradiente de dificuldade deve impor uma barreira seletiva, na qual apenas gametas masculinos com maior habilidade competitiva conseguem fecundar os óvulos. A disposição contínua dos óvulos também gera um gradiente de qualidade, uma vez que óvulos mais próximos ao pecíolo recebem maior aporte de nutrientes via floema e, conseqüentemente, podem produzir sementes com maior qualidade. Dessa forma, embriões formados pela fecundação de óvulos e grãos de pólen de menor qualidade têm maior chance de serem abortados de forma seletiva pela fêmea.

Neste trabalho, avaliamos os mecanismos de seleção pós-copulatórios em vagens de *Clitoria fairchildiana* (Fabaceae), uma espécie arbórea conhecida popularmente como “sombreiro”. Considerando que (i) há um gradiente de dificuldade de fecundação dos óvulos no ovário de *C. fairchildiana* e que (ii) o gameta de maior qualidade é aquele que consegue fecundar os óvulos de difícil acesso, nosso objetivo foi testar se (i) o óvulo de maior qualidade tem maior probabilidade de não ser fecundado e (ii) se o óvulo fecundado de menor qualidade tem maior probabilidade de ser abortado.

MATERIAL & MÉTODOS

COLETA DE DADOS

Realizamos o estudo na Reserva de Desenvolvimento Sustentável da Barra do Una (24°32'S; 47°15'O), localizada no município de Peruíbe, litoral sul do estado de São Paulo. Coletamos vagens de *C. fairchildiana* em julho de 2015, em todos os indivíduos localizados ao longo de aproximadamente 700 m em uma área de restinga. Ao todo, coletamos aleatoriamente vagens de 16 indivíduos. Coletamos em cada indivíduo, no máximo, cinco vagens que apresentavam constrições diagnósticas de óvulos não fecundados (Figura 1a) e, no máximo, cinco vagens que poderiam conter sementes abortadas e que não apresentavam a constrição diagnóstica. No total, obtivemos, no máximo, 10 vagens por indivíduo. Descartamos vagens que apresentavam sinais de predação ou modificação na sua coloração, pois não seria possível usar informações de sementes predadas ou em decomposição.

Abrimos as vagens e determinamos quais segmen-

tos do endocarpo continham evidências de óvulos não fecundados ou presença de sementes abortadas. Observamos que as sementes formavam uma seqüência crescente de distância do pecíolo em direção à ponta da vagem e atribuímos números a cada segmento do endocarpo a partir do pecíolo. Registramos a posição em que os óvulos fecundados e as sementes abortadas foram encontrados em todas as vagens (Figura 1b). Utilizamos as vagens que apresentaram óvulos não fecundados para testar a nossa hipótese relativa à probabilidade de não fecundação do óvulo em função da sua distância ao pecíolo. Para testar a nossa hipótese referente à probabilidade de aborto das sementes, utilizamos as vagens que apresentaram sementes abortadas, sendo que algumas destas vagens continham também óvulos não fecundados. Nos casos em que usamos vagens com óvulos não fecundados para testar a hipótese relativa ao aborto, excluímos os locos com óvulos não fecundados do ranking de distância das sementes ao pecíolo (Figura 1b), já que o aborto seletivo só pode ocorrer em sementes formadas após a fecundação. Consideramos que utilizar os dados de sementes abortadas nas vagens com óvulos não fecundados não enviesava nossos resultados, pois o grau de fecundação da vagem não influencia a probabilidade de aborto (Marshall & Grace, 1992).



Figura 1. (a) Fruto de *Clitoria fairchildiana* fechado. A seta aponta a constrição, indicio de não fecundação. (b) Fruto aberto com os rankings atribuídos aos segmentos de endocarpo. (I) Óvulo não fecundado no loco 2 resultando no índice de distância relativa ao pecíolo (DRP) = 0,22. (II) Loco com semente abortada. Para o cálculo do DRP de sementes abortadas, excluímos o segmento com um óvulo não fecundado. Assim, temos um embrião abortado no segmento 4 e um DRP = 0,5.

Dado que o número de segmentos do endocarpo é muito variável entre as vagens coletadas (mínimo = 5, máximo = 15), calculamos um índice de distância relativa ao pecíolo (DRP) para cada vagem dividindo a mediana dos rankings de interesse pelo número total de segmentos do endocarpo da vagem (Figura 1b). O DRP varia entre 0 (distância próxima ao pecíolo) e 1 (longe do pecíolo). Conside-

ramos os indivíduos de *C. fairchildiana* como nossa unidade amostral. Após calcularmos a mediana dos valores de DRP para cada vagem, calculamos a nossa estatística de interesse como a mediana dos valores de DRP entre todos indivíduos. Nossa previsão para a hipótese de não fecundação do óvulo em função da sua distância do pecíolo era que óvulos não fecundados estariam próximos ao pecíolo e, portanto, teriam um menor valor de DRP. Em relação à hipótese da probabilidade de aborto, esperávamos uma maior ocorrência de sementes abortadas nos locais distantes ao pecíolo, isto é, com maiores valores de DRP.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Usamos as mesmas análises estatísticas para testar ambas as hipóteses. Aleatorizamos 10.000 vezes a posição das sementes em cada vagem sob a hipótese nula de que a probabilidade de ocorrência de óvulos não fecundados ou sementes abortadas é a mesma em cada segmento do endocarpo de cada vagem. Para a hipótese relativa à probabilidade de não fecundação, calculamos a proporção de valores de DRP sob a hipótese nula que eram menores ou iguais ao valor observado de DRP. Para a hipótese relativa à probabilidade de aborto, calculamos a proporção de valores de DRP sob a hipótese nula que eram maiores ou iguais ao valor observado de DRP. Consideramos que o valor observado de DRP era significativo se as proporções calculadas eram menores que 0,05. Todas as análises estatísticas foram realizadas no ambiente de programação R 3.1.3 (R Development Core Team, 2015).

RESULTADOS

Calculamos o DRP de óvulos não fecundados para 56 vagens de 14 indivíduos. A mediana do DRP de óvulos não fecundados entre todos os indivíduos foi 0,45 (Figura 2). A proporção de valores de DRP calculados sob a hipótese nula que foram menores ou iguais ao valor observado foi 0,03. Da mesma forma, calculamos o DRP de sementes abortadas para 57 vagens de 16 indivíduos. A mediana do DRP de sementes abortadas entre todos os indivíduos foi 0,71 (Figura 2). A proporção de valores de DRP calculados sob a hipótese nula que foram maiores ou iguais ao valor observado foi 0,01.

DISCUSSÃO

Encontramos que a chance de que o óvulo não seja fecundado aumenta a medida que aumenta a dificuldade de acesso dos grãos de pólen aos óvulos. Isso corrobora a nossa hipótese de que o óvulo de maior qualidade tem maior probabilidade de não ser fecundado. Dessa forma, a presença de óvulos não fecundados deve ser maior, quanto maior for

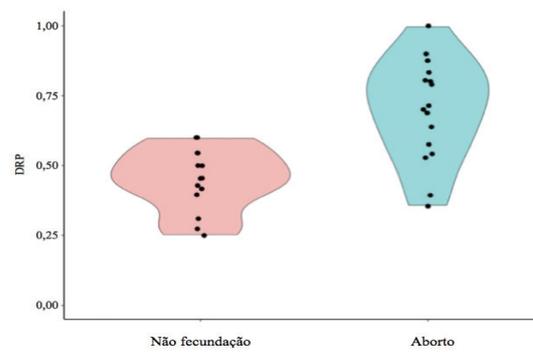


Figura 2. Distância relativa ao pecíolo (DRP) de óvulos não fecundados (esquerda) e de sementes abortadas (direita) calculada para todas as vagens de cada indivíduo. Cada ponto corresponde ao valor de DRP de um indivíduo (N = 14 para óvulos não fecundados e N = 16 para sementes abortadas). A densidade de pontos está representada pela largura da caixa ao redor dos pontos.

a limitação de pólen para uma planta (Harper, 1977). Essa limitação de acesso do pólen aos óvulos pode ser imposta por fatores que afetem a chance de encontro das flores por polinizadores, como é o caso de variações no grau de agregação das plantas no ambiente e a abundância local de polinizadores (Harper, 1977; Briggs & Walters, 1997). Portanto, plantas mais dispersas no ambiente ou que são menos frequentemente visitadas por polinizadores devem apresentar menor probabilidade de fecundação dos óvulos mais distantes da entrada do ovário.

Apesar de óvulos mais distantes do pecíolo terem maior probabilidade de serem fecundados, encontramos que as sementes formadas por estes óvulos possuem maiores chances de serem abortadas. Dessa forma, corroboramos a nossa hipótese de que óvulos fecundados por gametas de menor qualidade têm maior probabilidade de serem abortados. Existem pelo menos duas explicações não excluídas para o nosso resultado. A primeira é que o mecanismo de aborto de sementes em *C. fairchildiana* pode ser o resultado de uma escolha críptica da fêmea, uma vez que sementes mais distantes do pecíolo do fruto possuem alta probabilidade de terem sido fecundados por pólenes de suposta baixa qualidade (Sheldon, 2000; Reekie & Bazzaz, 2005; Eberhard, 2009). Essa estratégia poderia aumentar o seu sucesso reprodutivo da planta já que essas sementes, mesmo que maturadas, teriam uma baixa viabilidade. A segunda explicação é que a alta frequência de sementes abortadas em locais distantes do pecíolo é resultado da fecundação por grãos de pólen de baixa qualidade, que aumentam a chance de má formações das sementes.

Uma vez que mecanismos pós-copulatórios têm forte influência sobre o sucesso reprodutivo dos

organismos, eles podem gerar pressões seletivas sobre caracteres reprodutivos de machos e fêmeas (Eberhard, 2009). Em situações de limitação de recursos ou na presença de condições ambientais restritivas, indivíduos de *C. fairchildiana* podem produzir vagens de diferentes tamanhos ao alocar uma maior ou menor proporção dos recursos disponíveis em reprodução. Quando a vagem é menor, manter qualquer semente, mesmo que polinizada por pólen de menor qualidade é uma estratégia vantajosa para as fêmeas, uma vez que poucas sementes estão sendo produzidas. Por outro lado, as vagens maiores possuem um maior número de sementes a serem mantidas. Contudo, essas sementes estão dispostas ao longo de um gradiente mais amplo de dificuldade de fecundação, o que faz com que óvulos mais distantes do pecíolo tenham maior chance de terem sido fecundados por pólen de pouca qualidade e que, conseqüentemente, gerem sementes de menor viabilidade. Conseqüentemente, manter essas sementes de menor viabilidade diminui a quantidade de energia que pode ser alocada para as sementes que estão sendo formadas mais próximas ao pecíolo, que provavelmente têm maior vigor. Dessa forma, abortar as sementes mais distantes do pecíolo é uma estratégia que pode aumentar o sucesso reprodutivo de plantas com vagens grandes.

Finalmente, nossos dados indicam que existem mecanismos de seleção sexual pós-copulatórios atuando sobre vagens de *C. fairchildiana*. Esses mecanismos exercem pressões seletivas em direções diferentes de acordo com o tamanho das vagens. Em plantas que produzem vagens pequenas, qualquer aumento no tamanho da vagem implica em um aumento na capacidade de seleção de polens de maior qualidade. Por outro lado, em plantas que produzem vagens maiores, uma redução do tamanho da vagem pode levar a uma redução no número de sementes abortadas seletivamente, levando a um aumento no número de sementes viáveis produzidas. Dessa forma, mecanismos pós-copulatórios devem estar moldando o tamanho das vagens ao longo do tempo, reduzindo a frequência de ocorrência de indivíduos que produzem vagens com tamanhos extremos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Gustavo “Billy” Requena pela excelente orientação e ao Diog(r)o Melo pela ajuda com a análise de dados. Também agradecemos ao Gustavo “Billy” Requena, ao Diog(r)o Melo e à Laura Leal pelo amor, piadas e pelas valiosas sugestões no manuscrito.

REFERÊNCIAS

- Briggs, D. & S. M. Walters. 1997. *Plant variation and evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Darwin, C. 1871. *The descent of man and selection in relation to sex*, 6th edition. Modern Library, New York.
- Dugatkin, L. A. 2009. *Animal behavior*. W.W. Norton & Company, USA.
- Eberhard, W.G. 2009. Postcopulatory sexual selection: Darwin’s omission and its consequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 106:10025-10032.
- Eberhard, W.G. 2015. Cryptic female choice and other types of post-copulatory sexual selection, pp 1- 26. Em: *Cryptic female choice in arthropods*. (A.V. Peretti & A. Aisenberg, eds.). Springer International Publishing, Switzerland.
- Harper J. L. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press, London.
- Krebs, J.R. & N.B. Davies. 1993. *An introduction to behavioral ecology*. Blackwell, Oxford
- Marshall, C. & J. Grace. 1992. *Fruit and seed production: aspects of development, environmental physiology and ecology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- R Development Core Team. 2015. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reekie E. G. & F. A. Bazzaz. 2005. *Reproductive allocation in plants*. Elsevier Academic Press, California.
- Scott, G. 2015. *Essential animal behavior*. Department of Biological Sciences, University of Hull, Hull, UK.
- Sheldon, B.C. 2000. Differential allocation: tests, mechanisms and implications. *Trends in Ecology and Evolution*, 10:397-402.

Orientação: Gustavo Requena