



**JESSICA CRISTINA CARVALHO**

**EFEITOS DO SOMBREAMENTO NA  
BIOMASSA, REPRODUÇÃO E ANATOMIA DE  
*Salvinia auriculata* (Salviniaceae)**

**LAVRAS - MG**

**2015**

**JESSICA CRISTINA CARVALHO**

**EFEITOS DO SOMBREAMENTO NA BIOMASSA, REPRODUÇÃO E  
ANATOMIA DE *Salvinia auriculata* (Salviniaceae)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Ecologia Aplicada, área de  
concentração Ecologia e  
Conservação de Recursos em  
Paisagens Fragmentadas, para a  
obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Flávia de Freitas Coelho

Coorientador

Dr. Fabrício José Pereira

**LAVRAS – MG**

**2015**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Carvalho, Jessica Cristina.

Efeitos do sombreamento na biomassa, reprodução e anatomia  
de *Salvinia auriculata* (Salviniaceae) / Jessica Cristina Carvalho. –  
Lavras : UFLA, 2015  
73 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de  
Lavras, 2015.

Orientador(a): Flávia de Freitas Coelho.  
Bibliografia.

1. Planta aquática. 2. Plasticidade. 3. Luz. 4. Arquitetura Foliar.  
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**JESSICA CRISTINA CARVALHO**

**EFEITOS DO SOMBREAMENTO NA BIOMASSA, REPRODUÇÃO E  
ANATOMIA DE *Salvinia auriculata* (Salviniaceae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas, para a obtenção do título de Mestre.

**APROVADA em 27 de março de 2015**

**Dr. Pedro Bond Schwartsburd      UFV/DBV**

**Dra. Grazielle Sales Teodoro      UFLA/DCF**

**Dra. Flávia de Freitas Coelho**

**Orientador**

**Dr. Fabrício José Pereira**

**Coorientador**

**LAVRAS – MG**

**2015**

*Ao Criador que se fez Pai,  
Aos meus pais e irmãos que são o farol da minha caminhada,  
Ao meu noivo pelo seu amor.*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Acima de tudo e de todos, agradeço ao meu Criador que me inspirou a estudar as maravilhas de sua criação. Durante todos esses anos, nunca faltou com seu Amor e sua presença que se tornavam palpável sempre que eu precisava.

Ao meu pai Fábio que sempre me apoiou nas minhas decisões, escolhas e sonhos. Obrigada pelo suor do seu trabalho que me permitiu ter uma boa formação e realizar o sonho de fazer Biologia.

À minha mãe Ângela por ser uma mulher batalhadora. O meu caminho intelectual e profissional devo ao seu esforço. O meu caminho espiritual devo às suas palavras e relacionamento com Deus. Nunca senti medo por saber que sempre me cobria com suas orações.

Ao meu irmão Pedro que sempre admirei e que me ensinou a ser autêntica e a acreditar em mim mesma. À minha irmã Fabiana por ser companheira e amorosa. Ao meu irmão Raphael também pelo seu companheirismo e pelas suas tiradas engraçadas. À minha irmã Olívia sempre demonstrando o amor da forma mais simples e pura. Amo vocês!

Ao meu noivo Fabiano que sempre me ajudou durante essa difícil caminhada. Não poderia encontrar companheiro melhor para mim. Te amo muito!

Aos meus professores por serem agentes transformadores. Admiro todos que passaram pela minha caminhada e me lembro de cada rosto.

À minha orientadora Flávia Coelho que dedicou tempo para uma orientação educacional e profissional, mas também pelas conversas descontraídas, animadoras e de amizade. Agradeço por todos esses anos de orientação! Ao meu co-orientador Fabrício Pereira que me ajudou a realizar os estudos de anatomia e a enriquecer o meu trabalho. Agradeço por ter me

disponibilizado o Laboratório de Anatomia e seus recursos. Ao técnico Ítalo que me ensinou todos os procedimentos para o sucesso deste estudo.

À Universidade Federal de Lavras por seus recursos e por ser o lugar certo na hora certa. Tenho orgulho da minha Universidade. Ao Departamento de Biologia que foi essencial para minha formação e ao Programa de Ecologia Aplicada por ter me dado a oportunidade de seguir a carreira dos meus sonhos. À CAPES pela concessão da bolsa durante o período de mestrado.

Ao Dr. Pedro Bond e Dra. Grazielle Teodoro pela disposição em participarem da minha banca e acrescentar valiosas observações para o sucesso desse trabalho.

Aos amigos que fiz e construí ao longo desses anos de estudos em Lavras. Colegas de graduação e de mestrado que me deram forças para levar a vida de forma mais leve.

Ao LEEPH e às queridas Josi e Tamiris que me ajudaram muito durante o experimento. Espero que de alguma forma, tenham se apaixonado mais pelas plantas aquáticas.

À Primeira Igreja Presbiteriana de Lavras que foi meu refúgio durante esses anos. À Igreja Metodista de Poços de Caldas por ser fonte inesgotável do amor de Deus. Tenho amigos que são especiais.

Enfim, são tantos porque Deus nunca me desamparou. Meus passos nunca foram sozinhos. Sempre tive pessoas especiais ao meu lado. Em tom de despedida, olho para trás e posso resumir esses anos de Lavras em apenas três palavras: cuidado de Deus!

## RESUMO

Plantas aquáticas apresentam grande plasticidade para se adaptar ao ambiente. Esta plasticidade está ligada à habilidade do organismo de modificar sua fisiologia ou morfologia em resposta à variação das condições ambientais. Plantas que se encontram em condições de limitação de recursos podem desenvolver estratégias para sobreviver à situação de estresse. Um dos recursos essenciais para macrófitas aquáticas é a disponibilidade de luz. *Salvinia auriculata* é uma samambaia aquática conhecida por ser uma planta daninha de rápido crescimento. Seus rametes podem crescer de forma desenfreada na superfície da água e prejudicar o equilíbrio do ambiente. Conhecer as variações morfológicas frente a condições adversas é importante para compreender estratégias que a planta desenvolve para crescer e se reproduzir. O objetivo do trabalho é verificar os efeitos do sombreamento na alocação de biomassa, na reprodução e na anatomia foliar de *S. auriculata* para compreender as modificações que a planta apresenta frente à limitação de luz. O experimento foi realizado em casa de vegetação utilizando-se sombrites para os diferentes tratamentos (0%, 35% e 70% de sombreamento). Os resultados indicam que o sombreamento diminui a biomassa dos rametes e também dos esporocarpos, estruturas originadas de reprodução sexuada. No entanto, a planta investiu em reprodução assexuada através da produção de brotos nos tratamentos que continham sombreamento. Além disso, sob condição de sombreamento, houve modificações na anatomia da folha com a redução da espessura dos tecidos ligados à fotossíntese. Porém, a arquitetura foliar foi mantida e os rametes se desenvolveram mesmo com pouca luz. Isso mostra que *S. auriculata* apresenta plasticidade na reprodução e na anatomia foliar, capaz de manter o desenvolvimento dos rametes mesmo em condição de sombreamento.

**Palavras-chave:** Planta aquática. Plasticidade. Luz. Arquitetura foliar.



## ABSTRACT

Aquatic plants exhibit great plasticity to adapt to the environment. This plasticity is attached to the ability of the organism to change its physiology or morphology to respond to environmental conditions variations. Plants that are in a situation of limited resources can develop strategies to go over stress. One of the essential resources to aquatic macrophytes is the light availability, especially for conducting photosynthesis and other metabolic processes. *Salvinia auriculata* is an aquatic fern known to be a weed plant with a fast growth. Its ramets can expand in a rampant way on the water surface and harm the environmental balance. Knowing the morphological changes under harsh conditions is important to understand the strategies that a plant develops for growth and reproduction. The aim of this study was to observe the shading effects on biomass allocation, reproduction and leaf anatomy of *S. auriculata* to understand the changes that the plant presents under light limitation. The experiment was conducted in a greenhouse using shading nets to three treatments (0%, 35% and 70% of shading). The results show that the shaded condition decreased the ramets biomass and the sporocarps biomass, structures originated by sexual reproduction. The plant invested in asexual reproduction by buds production in shaded treatments. Moreover, there were changes in leaf anatomy with the reducing of tissues thickness attached to the photosynthesis. However, the leaf architecture was maintained and the ramets develop even in low light. It shows that *S. auriculata* presents reproduction and leaf anatomy plasticity that is capable to maintain the ramets development even in shaded conditions.

**Keywords:** Aquatic plant. Plasticity. Light. Leaf architecture.

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

**Figura 1** Esquema de um ramete de *Salvinia auriculata*, mostrando os dois folíolos aéreos e o folíolo submerso..... 28

**Figura 2** Teste de análise de variância (ANOVA) da biomassa: **(a)** dos rametes ( $F=5,76$ ;  $p<0,05$ ); **(b)** dos brotos ( $F=3,237$ ;  $p<0,05$ ); **(c)** e dos esporocarpos ( $F=1,079$ ;  $p<0,05$ ), de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Tukey..... 31

**Figura 3** Número de: **(a)** ramificações ( $F=9,10$ ;  $p<0,05$ ); **(b)** brotos ( $F=1,92$ ;  $p=0,15$ ); **(c)** e esporocarpos ( $F=10,549$ ;  $p<0,05$ ), de *Salvinia auriculata* nos três níveis de tratamento (0, 35% e 70% de sombreamento) em função do tempo (10, 20 e 30 dias), através do modelo misto tempo\*tratamento..... 33

**Figura 4** **(a)** Número de esporocarpos e brotos nos três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento); **(b)** Regressão entre o número de esporocarpos e o número de brotos ( $R^2=0,775$ ,  $p<0,05$ ) ..... 35

### Capítulo 2

**Figura 5** Teste de análise de variância (ANOVA) da espessura: **(a)** do parênquima paliçádico ( $F= 18,309$ ;  $p< 0,05$ ); **(b)** e do parênquima esponjoso ( $F= 3,64$ ;  $p< 0,05$ ), dos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35% e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott..... 56

**Figura 6** Teste de análise de variância (ANOVA) da área de aerênquima: **(a)** do parênquima paliçádico ( $F= 1,759$ ;  $p>0,05$ ); **(b)** e do parênquima esponjoso ( $F= 10,252$ ;  $p< 0,05$ ), dos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott..... 58

**Figura 7** Teste de análise de variância (ANOVA) da espessura: **(a)** da epiderme adaxial ( $F= 55,126$ ;  $p<0,05$ ); **(b)** e da epiderme abaxial ( $F= 22,65$ ;  $p<0,05$ ), dos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott ..... 60

**Figura 8** Teste de análise de variância (ANOVA) da espessura do limbo foliar ( $F= 36,184$ ;  $p<0,05$ ) de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott..... 61

**Figura 9** Secções transversais de folíolos de *S. auriculata* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **a** = 0% de sombreamento (controle); **b** = 35% de sombreamento; **c** = 70% de sombreamento. As estruturas são: EAD (epiderme da face adaxial), EAB (epiderme da face abaxial), PP (parênquima clorofiliano), PE (parênquima esponjoso), Aer. (aerênquima), Clor. (cloroplastídeo)..... 62

**Figura 10** Teste de análise de variância (ANOVA) do número de cloroplastídeos ( $F=12,809$ ;  $p<0,05$ ) de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott..... 63

**Figura 11** Teste de análise de variância (ANOVA) do teor de clorofila ( $F=36,682$ ;  $p<0,05$ ) nos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott..... 64

**Figura 12** Teste de análise de variância (ANOVA) do diâmetro dos cloroplastídeos ( $F=37,51$ ;  $p<0,05$ ) nos folíolos aéreos de *S. auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott..... 65

**Figura 13** Teste de análise de variância (ANOVA) da densidade de tricomas ( $\text{mm}^2$ ) ( $F=0,756$ ;  $p>0,05$ ) nos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35, 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott..... 66

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

<b>Tabela 1</b> Valores de F e <i>p</i> dados pelo modelo misto entre as variáveis estudadas (número de ramificações, número de brotos, número de esporocarpos) e o tratamento, o tempo e a interação tratamento e tempo em rametes de <i>Salvinia auriculata</i> . * Valores significativos ( $p < 0,05$ ).....	32
--	----

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
	ARTIGO 1: Efeitos do sombreamento na reprodução e alocação de biomassa de <i>Salvinia auriculata</i> (Salviniaceae).....	21
	RESUMO.....	23
	ABSTRACT.....	24
1	INTRODUÇÃO.....	25
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
2.1	Espécie de Estudo.....	27
2.2	Experimento em Casa de Vegetação.....	28
2.3	Análise de Dados.....	29
3	RESULTADOS.....	30
4	DISCUSSÃO.....	36
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
	ARTIGO 2: Efeitos do sombreamento na anatomia foliar de <i>Salvinia auriculata</i> (Salviniaceae).....	46
	RESUMO.....	48
	ABSTRACT.....	49
1	INTRODUÇÃO.....	50
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	52
2.1	Espécie de Estudo .....	52
2.2	Experimento em Casa de Vegetação.....	52
2.3	Análises Anatômicas.....	53
2.4	Análise de Dados.....	55
3	RESULTADOS.....	55
4	DISCUSSÃO.....	66
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Macrófitas aquáticas são organismos que habitam ambientes alagados e úmidos, como brejos, represas, lagos e rios, e estão amplamente distribuídas ao longo do globo terrestre (COOK, 1996). Estas plantas desempenham funções importantes nos corpos d'água, tais como participação na ciclagem de nutrientes, auxílio na proteção e estabilização das margens (ESTEVES, 2011). Porém, com as atividades antrópicas, como lançamento de efluentes, desmatamento, barramento e canalização de rios, diversas alterações abióticas e bióticas têm ocorrido nos ecossistemas aquáticos e alterado as populações de macrófitas aquáticas (MARCONDES et al., 2003; CARVALHO et al., 2003).

Dentro do grupo de macrófitas aquáticas encontram-se as samambaias aquáticas, que constituem menos de 1% das samambaias atuais, pertencentes à ordem Salviniales. Esta ordem é composta por plantas que produzem esporos verdadeiramente dimórficos – condição referida como heterosporia (BATEMAN; DI MICHELE, 1994). Dentre as espécies mais conhecidas encontramos *Salvinia auriculata*, uma samambaia aquática livre-flutuante que se reproduz de duas maneiras: sexuadamente, através da produção de esporocarpos, que formam novos indivíduos geneticamente independentes (genetes), e assexuadamente com a formação de brotos, formando densos tapetes de plantas clonais (rametes), que contribuem para a sobrevivência e sucesso reprodutivo do genete parental (HARPER, 1977). *S. auriculata* contribui com o funcionamento do ecossistema em que está inserida, servindo de abrigo para peixes, estruturação da comunidade e biomassa produtiva (LORENZI, 2000).

As modificações nos cursos d'água, como eutrofização, podem gerar condições ideais para o crescimento e colonização desta e de outras espécies de macrófitas. Devido à sua rápida taxa de dispersão, muitas espécies de *Salvinia* têm se espalhado de suas regiões nativas da América do Sul para outras regiões

ao redor do mundo, como a América do Norte e Austrália (TIPPING et al., 2008). Além disso, seu crescimento vigoroso e o hábito flutuante tem resultado em uma cobertura total de corpos d'água parados, trazendo vários impactos negativos no ecossistema e causando problemas para o uso múltiplo dos recursos hídricos, como pesca e produção de energia elétrica (JULIEN; CENTER; TIPPING, 2002; JAMPEETONG; BRIX, 2009).

As macrófitas aquáticas podem ter seu crescimento limitado por diversos fatores bióticos e abióticos (LACOUL; FREEDMAN, 2006; FRANKLIN; MICHAEL; WHITEHEAD, 2008). Fatores como densidade, incidência de luz e autossombreamento podem induzir respostas morfológicas e fisiológicas nas macrófitas (DUARTE; KALFF, 1987). A luz é um dos fatores essenciais para as plantas, já que é fonte de energia para a realização de fotossíntese e de outros processos em seu metabolismo. A radiação luminosa influencia na produtividade das macrófitas, aumentando ou inibindo a taxa fotossintética, modificando características anatômicas e o crescimento de acordo com cada tipo funcional (*e.g.* flutuantes, enraizadas) (CAMARGO; PEZZATO; HENRY-SILVA, 2003).

Muitas espécies de plantas quando expostas a estresses ambientais apresentam respostas plásticas em seu desenvolvimento e em seus aspectos morfológicos, anatômicos, e reprodutivos (BLOOM; CHAPIN; MOONEY, 1985). A plasticidade implica na habilidade do organismo de modificar sua fisiologia ou morfologia em resposta à variação das condições ambientais (SCHLICHTING, 1986). Quando os recursos na natureza tornam-se limitados, os organismos possuem uma quantidade restrita de energia disponível para o gasto. Isso implica em um direcionamento preferencial de recursos para uma estrutura em detrimento de outras estruturas do organismo (SULTAN, 2000). Este é o princípio da alocação de recursos e pode ser comum nas plantas aquáticas (WEINER, 2004).



A plasticidade pode ser observada em diferentes características da planta, como biomassa e anatomia foliar. O ganho de biomassa da planta e de suas diferentes partes depende da disponibilidade de recursos do ambiente (SCHLICHTING, 1986). Algumas espécies que aumentam a alocação de biomassa para tecidos da folha ou caule em ambientes de sombra, diminuem a alocação de biomassa para outros tecidos, como raiz e sementes, mostrando um *trade-off* definido pela limitação do recurso (BLOOM; CHAPIN; MOONEY, 1985). Quanto à anatomia da planta, os tecidos que estão envolvidos na captação e reflexão de luz e no processo de fotossíntese são os que sofrem modificações em sua estrutura com a presença do sombreamento. Normalmente, folhas a pleno sol são mais espessas e têm maior capacidade fotossintética do que folhas de sombra. Isso se deve pelo aumento na quantidade de enzimas, de cloroplastídeos e do hormônio auxina, que contribui com a expansão celular (LARCHER, 2000). Além disso, a difusão de gases no mesófilo da folha, como o CO<sub>2</sub>, depende da estrutura interna do limbo foliar e da organização das células dos parênquimas (EVANS; LORETO, 2000). A capacidade de modificar a anatomia das folhas em resposta a diferentes intensidades de luz é um atributo comum de espécies que apresentam grande potencial de aclimação e plasticidade (BJORKMAN, 1981).

Para a realização do estudo, foi realizado um experimento em casa de vegetação para simular o ambiente natural. No experimento foram utilizados sombrites sob os rametes de *Salvinia auriculata* para compor os diferentes tratamentos de sombreamento. A dissertação está organizada em dois capítulos em forma de artigos que serão enviados para publicação em revistas científicas especializadas da área: 1º Efeito do sombreamento na alocação de biomassa e na reprodução de *S. auriculata*; 2º Efeito do sombreamento na anatomia foliar de *S. auriculata*.

## 2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATEMAN, R. M.; DI MICHELE, W. A. Heteropory: the most iterative key innovation in the evolutionary history of the plant kingdom. **Biological Review**, Oxford, v. 69, n. 3, p. 345-417, Aug. 1994.

BJORKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O. L. et al. (Ed.). **Encyclopedia of plant physiology: physiological plant ecology I**. New York: Springer-Verlag, 1981. p. 57-10.

BLOOM, A. J.; CHAPIN, F. S.; MOONEY, H. A. Resource limitation in plant-an economic analogy. **Annual Review of Ecological and Systematics**, Palo Alto, v. 16, p. 363-392, Nov. 1985.

CAMARGO, A. F. M.; PEZZATO, M. M.; HENRY-SILVA, G. G. Fatores limitantes à produção primária de macrófitas aquáticas. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: Eduem, 2003. p. 59-83.

CARVALHO, F. T. et al. Plantas aquáticas e nível de infestação das espécies presentes no reservatório de Barra Bonita, no rio Tietê. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, nesp., p. 15-19, 2003.

COOK, C. D. K. **Aquatic plant book**. New York: SPB Academic Publication, 1996.

DUARTE, C. M.; KALFF, J. Latitudinal influences on the depths of maximum colonization and maximum biomass of submerged angiosperms in lakes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Ottawa, v. 44, n. 10, p. 1759-1764, Apr. 1987.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos da Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.

EVANS, J. R.; LORETO, F. Acquisition and diffusion of CO<sub>2</sub> in higher plant leaves. In: LEEGOOD, R. C.; SHARKEY, T. D.; VON CAEMMER, S. (Ed.). **Photosynthesis physiology and metabolism**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 321-351.

FRANKLIN, P.; MICHAEL, D.; WHITEHEAD, P. Flow controls on lowland river macrophytes: a review. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 400, n. 1-3, p. 369-378, Aug. 2008.

HARPER, J. L. **Population biology of plants**. London: Academic Press, 1977.

JAMPEETONG, A.; BRIX, H. Nitrogen nutrition of *Salvinia natans*: Effects of inorganic nitrogen form of growth, morphology, nitrate reductase activity and uptake kinetics of ammonium and nitrate. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 90, n. 1, p. 67-73, Jan. 2009.

JULIEN, M. H.; CENTER, T. D.; TIPPING, P. W. Floating fern (*Salvinia*). In VAN DRIESCHE, R. **Biological control of invasive plants in the eastern United States**: volume 4. Morgantown: USDA Forest Service, 2002. p. 17-32.

LACOUL, P.; FREEDMAN, B. Recent observation of a proliferation of *Ranunculus trichophyllus* Chaix in high-altitude lakes of the Mount Everest region. **Arctic Antarctic Alpine Research**, Elmsford, v. 38, n. 3, p.394-398, Aug. 2006.

LARCHER, W. **Ecologia vegetal**. São Paulo: RiMa, 2000.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000.

MARCONDES, D. A. S. et al. Eficiência de fluridone no controle de plantas aquáticas submersas no reservatório de Jupia. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, nesp., p. 69-77, maio 2003.

SCHLICHTING, C. D. The evolution of phenotypic plasticity in plants. **Annual Review of Ecological and Systematics**, Palo Alto, v. 17, p. 667-693, Nov. 1986.

SULTAN, S. E. Phenotypic plasticity for plant development, function and life-history. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 5, n. 12, p. 537-542, Dec. 2000.

TIPPING, P. W. et al. Suppression of *Salvinia molesta* Mitchell in Texas and Louisiana by *Cyrtobagous salviniae* Calder and Sand. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 88, n. 3, p. 196-202, Apr. 2008.

WEINER, J. Allocation, plasticity and allometry in plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 6, n. 4, p. 207-215, 2004.

**CAPÍTULO 1: Efeitos do sombreamento na reprodução e alocação de  
biomassa de *Salvinia auriculata* (Salviniaceae)**

Versão preliminar: *Aquatic Botany*

THE SHADING EFFECT ON REPRODUCTION AND BIOMASS  
ALLOCATION OF *Salvinia auriculata* (Salviniaceae)

**Jessica Cristina Carvalho<sup>1</sup>, \*, Flávia de Freitas Coelho<sup>2</sup>, Josiane Carvalho  
Fonseca Silva<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Departamento de Biologia, Setor de Ecologia Aplicada, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 37200-000, Brazil.*

<sup>2</sup> *Departamento de Biologia, Setor de Botânica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 37200-000, Brazil. flaviafcoelho@gmail.com*

<sup>3</sup> *Departamento de Biologia, Setor de Ecologia Aplicada, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 37200-000, Brazil. josi-promessadivina@hotmail.com*

\* Corresponding author: Tel.: +55 35 3829-1924. E-mail: jcc-bio@hotmail.com

**Aquatic Botany**

## RESUMO

Muitas espécies de plantas expostas a estresses ambientais apresentam respostas plásticas em seu desenvolvimento. Uma das respostas é a alocação diferencial de biomassa, que resulta em ajustes funcionais para compensar os efeitos do estresse. Um fator que pode limitar o desenvolvimento de macrófitas aquáticas é a disponibilidade de luz, capaz de interferir no crescimento e reprodução. *Salvinia auriculata* é uma samambaia aquática que pode formar “tapetes” na superfície da água devido ao seu rápido crescimento. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do sombreamento no ganho de biomassa de *S. auriculata*, e examinar se há alocação diferencial de biomassa para reprodução sexuada ou assexuada para se adaptar às diferentes disponibilidades de luz. Rametes de *S. auriculata* foram submetidos a três diferentes níveis de sombreamento, em casa de vegetação, utilizando-se sombrites: 0% (controle), 35% e 70% de sombreamento. Os rametes, as estruturas reprodutivas (esporocarpos e/ou brotos) e as ramificações produzidas durante o experimento foram contadas e depois pesadas para obtenção da biomassa seca. O número e a biomassa destas estruturas foram avaliados através do teste de análise de variância (ANOVA). Os resultados mostram que, em condições de sombreamento, o número de ramificações, a biomassa dos rametes e dos brotos diminuíram. Além disso, é possível observar que não há produção e ganho de biomassa de esporocarpos em condição de pouca luz. Estruturas provenientes de reprodução sexuada, como os esporocarpos, exigem alto custo energético por parte da planta para a produção. Houve investimento na produção de brotos nos tratamentos com sombreamento. Isso mostra que *S. auriculata* apresenta plasticidade e alocação de biomassa diferencial para tolerar o sombreamento.

**Palavras-chave:** Plasticidade, Macrófita Aquática, Incidência de luz, Biomassa.

### ABSTRACT

Many species of plants exposed to environmental stresses exhibit plastic responses in its developments. One of the answers is the biomass differential allocation that results in functional adjustments to offset the stress effects. A factor that can limited the aquatic macrophytes development is the light available, capable to interfere on growth and reproduction. *Salvinia auriculata* is an aquatic fern that forms crowded “mats” on water surface due to its fast growth. Thus, the aim of the study was to evaluate the shade effect on biomass gain of *S. auriculata*, and observe if there is a differential allocation to sexual or asexual reproduction to adapt to different light available. *S. auriculata* ramets were submitted to three treatments, in a greenhouse, with different shade levels, using shading nets: 0% (control), 35% and 70% of shading. The ramets, the reproductive structures (sporocarps and/or buds) and the branches produced during the experiment were counted and then weighted to obtain the dry biomass. The number and biomass of these structures were analyzed by analysis of variance (ANOVA). The results show that in shaded conditions the branches number, the ramets and buds biomass decreased. Moreover, it is possible to observe that there is no production and biomass gain of sporocarps in low light condition. Structures from sexual reproduction, as sporocarps, require high energy cost from the plant to its production. There was an investment to buds production in the shaded conditions. These observations show that *S. auriculata* exhibit plasticity and biomass differential allocation to tolerate shading.

**Keywords:** Plasticity, Aquatic Macrophyte, Light incidence, Biomass.

## 1 Introdução

Muitas espécies de plantas quando expostas a estresses ambientais apresentam respostas plásticas em seu desenvolvimento, morfologia ou reprodução. Essa plasticidade, ou seja, a habilidade do organismo de modificar sua fisiologia ou morfologia em resposta à variação das condições ambientais (Schlichting, 1986), pode levar mudanças nos padrões de alocação de recursos (Weiner, 2004). Esses padrões de alocação resultam em ajustes funcionais para compensar os efeitos do estresse (Sultan, 2000). Em plantas, a alocação de recursos reflete a competição pelos recursos limitados (Stearns, 1992) e implica em um *trade-off*, o qual caracteriza-se pelo direcionamento preferencial de recursos para uma função ou estrutura em detrimento de outras (Weiner, 2004).

Assim como plantas terrestres, macrófitas possuem diferentes respostas à limitação de luz (Fu et al., 2012), o que pode induzir modificações no crescimento e reprodução dessas plantas (Duarte & Kalff, 1987). No ecossistema aquático, a radiação luminosa influencia a produtividade das macrófitas, aumentando ou inibindo a taxa fotossintética e o crescimento de acordo com cada tipo funcional das plantas aquáticas, como submersas, flutuantes e enraizadas (Camargo et al., 2003). Dessa maneira, adaptações frente à disponibilidade de luz representam um papel fundamental na sobrevivência de plantas (Yuan et al., 2012). Algumas espécies que aumentam a alocação de biomassa para tecidos da folha ou caule em ambientes de sombra, diminuem a alocação de biomassa para outros tecidos, como raiz e sementes, mostrando um *trade-off* definido pela limitação do recurso (Bloom, 1985). Variabilidade na estrutura da planta e alocação de biomassa são aspectos centrais para adaptação da planta em diferentes ambientes (Tilman et al., 1988; Grime et al., 2001). Se a planta não apresenta respostas plásticas frente às alterações de luz, o sucesso reprodutivo e a permanência no local são prejudicados (Wersal e Madsen, 2013).



Muitas plantas clonais reproduzem-se através de reprodução assexuada ou reprodução sexuada (Worley & Harder, 1996). Porém, em condições ambientais adversas, as diferenças funcionais entre os dois modos de reprodução afetam as estratégias reprodutivas de espécies clonais (Harper, 1977). Organismos clonais que se reproduzem assexuadamente têm como unidades fisiológicas os rametes, conectados entre si e capazes de transferir recursos para rametes em desenvolvimento (Slade & Hutchings, 1987). Essa integração fisiológica facilita o estabelecimento de novos rametes e beneficia o crescimento e sobrevivência de todo o clone (Lötscher, 2006; Wang et al., 2008). Alguns estudos mostram que a integração clonal melhora o crescimento de rametes que estão sob condições estressantes, já que melhora a distribuição dos recursos entre os rametes parentais e os novos rametes (Alpert, 1999; Wang et al., 2009).

Sabe-se que *Salvinia auriculata* utiliza-se de estratégias reprodutivas para enfrentar o estresse de seca extrema. Indivíduos desta espécie desenvolvem-se através de reprodução vegetativa no período de cheia, produzindo brotos e aumentando a área de colonização. No período de seca, os rametes formam estruturas de resistência (esporocarpos) para manter a população durante o período de estresse. Estratégias reprodutivas mistas permitem com que os indivíduos de *S. auriculata* sobrevivam em locais de regimes sazonais de inundação e seca (Coelho et al., 2005). Porém, não se sabe se estas plantas possuem estratégias para se manter em locais sombreados, e se há investimento diferencial em algum tipo de reprodução.

No caso de macrófitas que apresentam altas taxas de crescimento e prejudicam a utilização do corpo d'água, a limitação de luz (e.g. sombreamento) ou autossombreamento pode ser uma forma de controle e manejo. Indivíduos do gênero *Salvinia* são capazes de dobrar o número de folhas na superfície da água em apenas 2 dias. Na falta de controle, podem se espalhar a uma taxa de 400 km<sup>2</sup> por ano, através de ramificações que aumentam o crescimento horizontal da

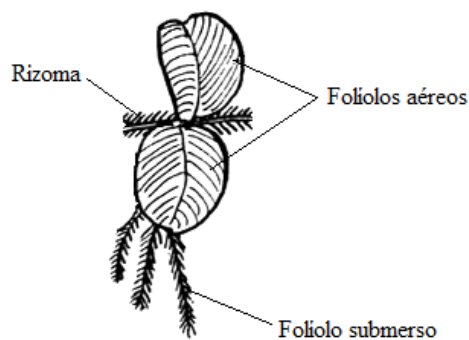
planta. Sob condições favoráveis, podem produzir biomassa fresca a uma taxa que excede 200 t/ha em apenas 10 dias (Julien et al., 2002). Desta maneira, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do sombreamento no ganho de biomassa de *S. auriculata*. Além disso, examinar se há alocação diferencial de biomassa para reprodução sexuada ou assexuada para se adaptar às diferentes condições de sombreamento. Assim, testamos as seguintes hipóteses: (1) Os rametes apresentam maior ganho de biomassa em menor porcentagem de sombreamento; (2) O número de ramificações e de estruturas reprodutivas aumenta ao longo do tempo quando os rametes estão sob menor porcentagem de sombreamento; (3) Existe um *trade-off* entre o número das estruturas reprodutivas sexuadas (esporocarpos) e assexuadas (brotos) em condição de maior sombreamento.

## 2 Material e métodos

### 2.1 Espécie de estudo

*Salvinia auriculata* Aubl. (Monylophyta: Salviniaceae) é uma samambaia livre-flutuante que pode formar densos tapetes na superfície de lagoas temporárias ou permanentes. A planta consiste em rametes conectados por rizomas (Room, 1983). Cada ramete é composto por um nó que sustenta uma folha dividida em dois folíolos verdes flutuantes e uma folha submersa. Os folíolos flutuantes são responsáveis pela fotossíntese. A folha submersa também é dividida em folíolos e é semelhante a uma raiz, responsável pela absorção de água e nutrientes, e pela reprodução assexuada (Sculthorpe, 1967). Raízes verdadeiras não são encontradas (FIGURA 1). Essa estrutura também sustenta órgãos produtores de esporocarpos, que consistem em um “soro” circundado por um indúcio globoso (De la Sota, 1962). Os esporocarpos são estruturas resistentes, e sua produção é expressiva durante o período de seca, quando o crescimento clonal é desfavorecido. Nos períodos de cheia, a reprodução

assexuada aumenta com a formação de brotos (Coelho et al., 2005). O broto é uma estrutura pequena formada ao final do rizoma, com os folíolos aéreos fechados. Esta estrutura cresce para formar um novo ramete que vai se estender em uma nova ramificação, formando a arquitetura do clone.



**Figura 1** Esquema de um ramete de *Salvinia auriculata*, mostrando os dois folíolos aéreos e o folíolo submerso.

## 2.2 Experimento em Casa de Vegetação

Os rametes foram coletados em uma lagoa sob influência do Rio Grande ( $21^{\circ} 11' 15''$  S;  $45^{\circ} 05' 02''$  W), próximo ao município de Ribeirão Vermelho - MG.

As plantas foram lavadas em água destilada para retirada de matéria orgânica, partículas de solo e partes mortas. Qualquer estrutura reprodutiva presente nos rametes selecionados (esporocarpos e/ou brotos) foi retirada. Os rametes coletados foram medidos e selecionados quanto à uniformidade de tamanho e aparência de fitossanidade das folhas aéreas e submersas, e levados à casa de vegetação do Departamento de Biologia, Setor de Botânica Estrutural.

O experimento foi conduzido no período de 30 dias. Foram utilizados 45 potes plásticos translúcidos, com capacidade de 1L cada, por cima de uma

bancada de superfície uniforme. Em cada pote foi acondicionado um ramete, sendo todos de mesmo tamanho e aparência. Por cima dos potes, foram utilizados sombrites constituídos por 2 níveis de sombreamento e um controle, totalizando 3 tratamentos com 15 repetições cada (N=45): controle (T0), 35% de sombreamento (T1) e 70% de sombreamento (T2). Os potes continham solução de Hoagland-Arnon (1950) com força iônica de 20% preparada em água destilada, com de 8cm de profundidade. A solução foi trocada de 7 em 7 dias, a fim de limpar os potes e evitar a proliferação de algas.

A cada 10 dias, o número de rametes, de esporocarpos, de brotos e de ramificações em cada tratamento foram contados, totalizando 3 medições ao longo do tempo. Ao final do experimento, os rametes de cada pote foram lavados e tiveram suas estruturas reprodutivas (brotos e esporocarpos) separadas. Posteriormente, os rametes, brotos e esporocarpos de cada tratamento foram submetidos à secagem em estufa a 60°C e pesados em balança de precisão. Obtivemos o peso seco total dos rametes que se desenvolveram em cada tratamento, dos esporocarpos e dos brotos para cada repetição (N=45).

### ***2.3 Análise de dados***

A relação entre o sombreamento e a biomassa seca dos rametes, esporocarpos e brotos foi investigada através do teste de análise de variância (one-way ANOVA), onde o sombreamento é a variável preditora categórica (fator) e a biomassa é a variável resposta. Para verificar a diferença das médias par a par, foi realizado o teste a posteriori teste Tukey. Para avaliar o tipo de reprodução que ocorre em condições de maior sombreamento, foi realizada uma comparação entre o número e a biomassa das estruturas reprodutivas (brotos e esporocarpos) através da análise de variância (one-way ANOVA). Os dados foram testados quanto à normalidade e foram considerados normais.

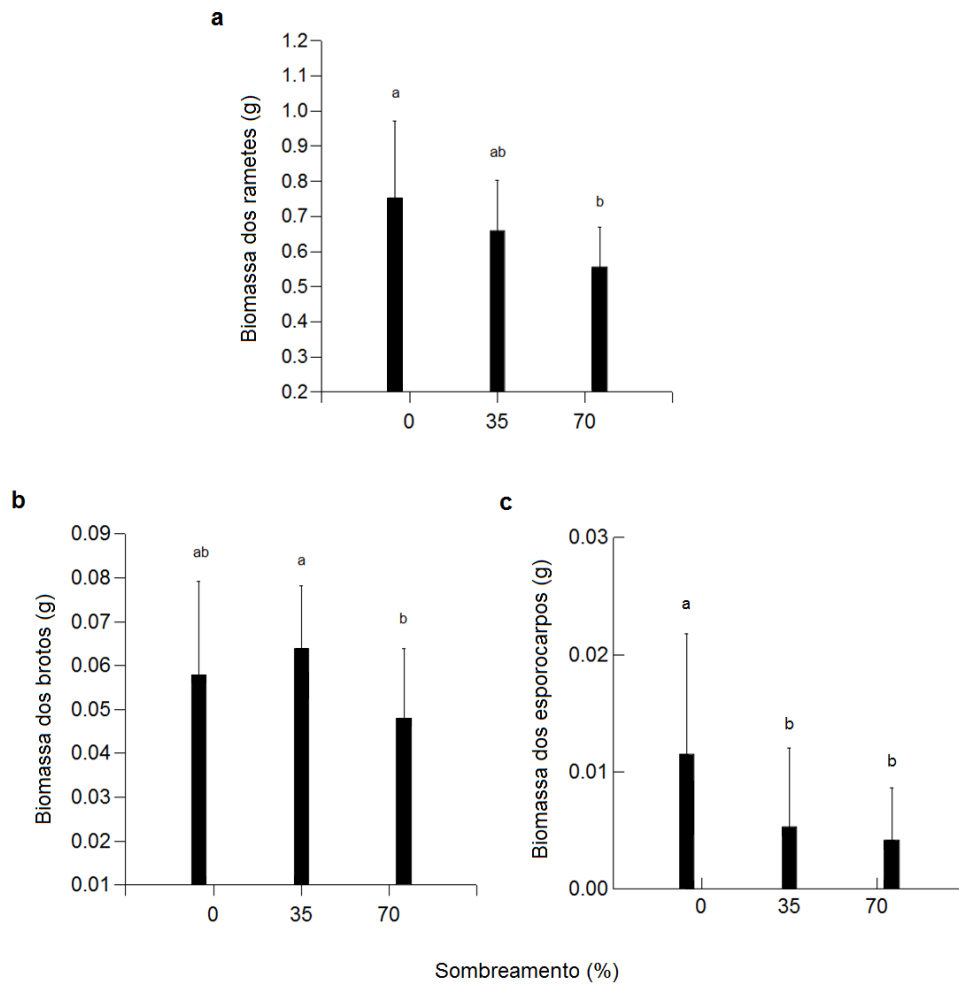
Para avaliar o número de esporocarpos e brotos ao longo do tempo, foi utilizado o modelo misto do programa R, usando como fator fixo o tratamento com três níveis (controle, 35% de sombreamento e 70% de sombreamento), o tempo também com três níveis (10, 20 e 30 dias) e as estruturas reprodutivas como fator aleatório. O mesmo foi realizado para a produção de ramificações ao longo do tempo, apresentando como fator aleatório o número de ramificações. O modelo misto testou o efeito do tempo, do tratamento e da interação tempo \* tratamento. Os dados foram normalizados, usando para a correção dos mesmos a raiz quadrada.

Para testar se existe um *trade-off* entre o número de esporocarpos e o número de brotos produzidos ao longo do experimento, foi realizada uma regressão linear com a média dos números de cada estrutura.

### 3 Resultados

Os diferentes níveis de sombreamento afetaram a biomassa dos rametes e das estruturas reprodutivas de *S. auriculata*. Há uma diminuição na biomassa dos rametes no tratamento com 70% de sombra ( $F=5,762$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 2a). O tratamento intermediário de 35% de sombra não afetou a biomassa dos rametes e não apresentou diferença entre os outros tratamentos (0-35,  $p=0,271$ ; 35-70,  $p=0,194$ ).

O ganho de biomassa dos brotos também foi prejudicado com maior intensidade de sombra (FIGURA 2b). Com 35% de sombreamento, a biomassa dos brotos permanece estável, porém, com 70% de sombra, a biomassa diminui ( $F=3,237$ ;  $p<0,05$ ). O sombreamento prejudicou de maneira mais rígida a biomassa dos esporocarpos. O sombreamento de 35% afetou a biomassa dos esporocarpos, e manteve dessa maneira no tratamento de 70% de sombra ( $F=1,079$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 2c).



**Figura 2** Teste de análise de variância (ANOVA) da biomassa: **(a)** dos rametes ( $F=5,76$ ;  $p<0,05$ ); **(b)** dos brotos ( $F=3,237$ ;  $p<0,05$ ); **(c)** e dos esporocarpos ( $F=1,079$ ;  $p<0,05$ ), de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Tukey.

Para o número de ramificações, houve diferença entre os tratamentos e o tempo. Não houve diferença no número de brotos entre os tratamentos, no entanto, houve diferença com o tempo. O número de esporocarpos foi diferente entre os tratamentos, mas não houve efeito do tempo (TABELA 1).

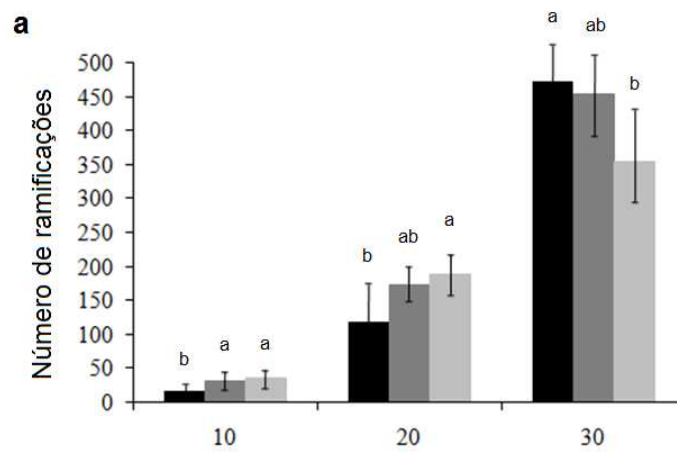
**Tabela 1** Valores de F e *p* dados pelo modelo misto entre as variáveis estudadas (número de ramificações, número de brotos, número de esporocarpos) e o tratamento, o tempo e a interação tratamento e tempo em rametes de *Salvinia auriculata*. \* Valores significativos ( $p < 0,05$ ).

	Tratamento		Tempo		Tratamento x Tempo	
	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Nº de ramificações	10,61	<0,05*	851,80	<0,05*	9,10	<0,05*
Nº de brotos	0,59	0,56	765,61	<0,05*	1,92	0,15
Nº de esporocarpos	1,34	<0,05*	0,67	0,42	0,15	0,86

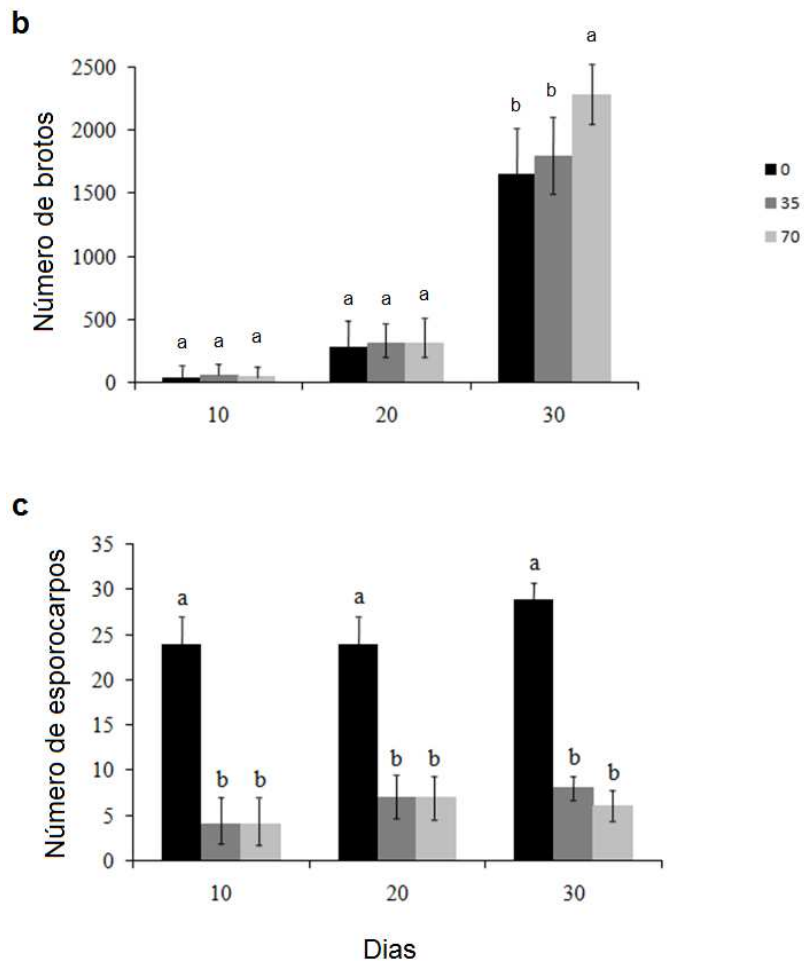
O número de ramificações formadas ao longo do experimento, nas primeiras medições (tempo 10 e 20), foi maior no tratamento com 70% de sombreamento. Porém, no último dia de medição essa diferença inverteu, onde o número de ramificações formadas foi maior no tratamento controle do que nos tratamentos sombreados ( $F=9,10$ ;  $p < 0,05$ ) (FIGURA 3a).

O número de brotos produzidos ao longo do tempo foi maior com maior sombreamento ( $t=-2,27$ ;  $p < 0,05$ ) (FIGURA 3b). O número de brotos produzidos é maior quando em situação de estresse, mas o crescimento e o ganho de

biomassa são prejudicados em maior nível de sombreamento. O número de esporocarpos produzidos foi maior no tratamento controle e prejudicado com a presença de sombra ( $F=10,549$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 3c).

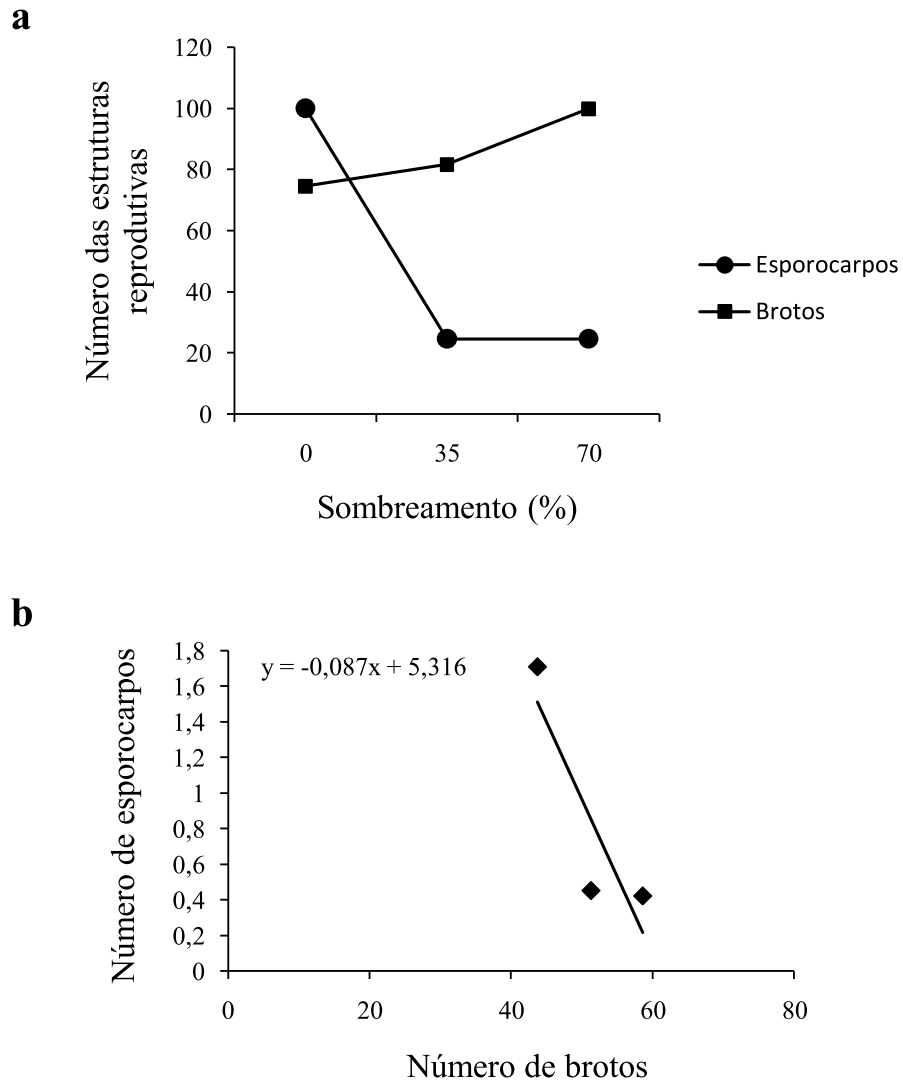






**Figura 3** Número de: **(a)** ramificações ( $F=9,10$ ;  $p<0,05$ ); **(b)** brotos ( $F=1,92$ ;  $p=0,15$ ); **(c)** e esporocarpos ( $F=10,549$ ;  $p<0,05$ ), de *Salvinia auriculata* nos três níveis de tratamento (0, 35% e 70% de sombreamento) em função do tempo (10, 20 e 30 dias), através do modelo misto tempo\*tratamento.

O número de brotos produzidos aumenta e o número de esporocarpos diminui com o sombreamento (FIGURA 4a), além disso, existe uma relação negativa entre o número destas estruturas ( $R^2=0,775$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 4b).



**Figura 4 (a)** Número relativizado de esporocarpos e brotos nos três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento); **(b)** Regressão entre o número de esporocarpos e o número de brotos ( $R^2=0,775$ ,  $p<0,05$ ).

#### 4 Discussão

Os resultados mostram que o sombreamento é um fator que afeta a biomassa e, principalmente, os modos reprodutivos de *Salvinia auriculata*. Espécies do gênero *Salvinia* são bem conhecidas por sua grande plasticidade fenotípica (Room, 1990). *S. molesta* sob condições de alta densidade apresenta folhas aéreas maiores e verticalmente orientadas (Room 1990; Gopal & Goel, 1993). Em condições de alta densidade, as concentrações de nitrogênio nos tecidos de *Salvinia* diminuem (Room, 1988), e as folhas submersas, que funcionam como raízes, respondem a falta deste nutriente com aumento de tamanho (Room, 1983; Room, 1990), tornando-se melhores competidoras para a captação de N (Room, 1983). *Salvinia auriculata* em locais de alta densidade apresenta rametes maiores, tanto no comprimento quanto na área da superfície das folhas aéreas (Coelho et al., 2000). Quanto à reprodução, a produção de esporocarpos é altamente influenciada pela seca, já que são estruturas de resistência que permanecem dormentes durante este período (Coelho et al., 2005). Os resultados deste trabalho estão de acordo com todos os trabalhos citados acima no que diz respeito à plasticidade de *Salvinia*, principalmente nos modos reprodutivos.

O ganho de biomassa dos rametes é prejudicado quando a planta se desenvolve em alto nível de sombreamento (70%). Esta observação já tem sido feita por vários estudos com macrófitas aquáticas, incluindo o gênero *Salvinia*, onde o ganho de biomassa está ligado à presença de luz (Rani & Bhambie, 1983; Garbey et al., 2006; Schooler, 2008; Jo et al., 2010; Boustany et al., 2010; Yuan et al., 2012; Wersal & Madsen, 2013; Zhao et al., 2013). Em ambientes aquáticos, a luz é o fator mais importante que limita o crescimento de macrófitas (Barko, 1986), sendo assim, sob condições de pouca luz, a alocação de recursos para o ganho de biomassa é prejudicada.

Porém, os resultados deste trabalho mostram que com um nível intermediário de sombra (35%), a biomassa não é fortemente comprometida. O mesmo foi observado por Zutshi e Vass (1971), onde *S. natans* apresentou um aumento considerável na biomassa sob condições parciais de sombreamento. Além disso, Olguín et al. (2002) mostraram que *S. minina* é capaz de fitorremediar e acumular grandes quantidades de metais pesados mesmo em condições de pouca luz. Isso mostra que o gênero *Salvinia* é tolerante a ambientes onde o recurso luminoso é parcialmente reduzido.

Todas as plantas necessitam de energia para a realização de suas funções biológicas, principalmente para a reprodução. Para plantas aquáticas, a luz é essencial para a formação de estruturas provenientes de reprodução sexuada, como flores e frutos (Jo et al., 2010; Garbey et al., 2006; Yuan et al., 2012). No caso de *S. auriculata*, os modos reprodutivos, sexuados e assexuados, também mostraram respostas plásticas ao sombreamento, o qual determinou o modo reprodutivo da planta. Os resultados mostram que a ausência da incidência de luz impede a formação e o aumento da biomassa de esporocarpos, os quais são mais calóricos do que brotos vegetativos. Os esporocarpos são conhecidos como estruturas de resistência, capazes de permanecerem dormentes por muito tempo até que a condição ambiental esteja favorável (Sculthorpe, 1967; Hoffman & Stockey, 1994; Coelho et al. 2005). *Salvinia auriculata* investe seus recursos para a produção de propágulos sexuais na ocorrência de alguma adversidade ambiental, já que não seria proveitoso alocar biomassa para reprodução clonal e formas vegetativas, as quais poderiam morrer com facilidade (Coelho et al., 2005). O esporocarpo se desenvolveu como um órgão resistente e adaptado a sobreviver em ambientes adversos de seca (Sculthorpe, 1967). Porém, os resultados deste trabalho mostram que em caso de falta de luz, não há produção de esporocarpos. Estas estruturas de resistência, oriundas de reprodução sexuada, são “custosas” para a planta, e demandam muita energia. É muito

provável que devido a este fato, sua produção ocorra apenas em momentos decisivos para sua sobrevivência, como foi sugerido por Hoffman & Stokey (1994).

A estratégia utilizada por indivíduos de *S. auriculata* foi investir na produção de brotos para tolerar a condição de sombreamento, pois, desta forma, eles podem aumentar sua área fotossintética e continuar realizando suas principais funções biológicas: sobrevivência e reprodução. Neste trabalho, apesar da redução na biomassa dos brotos em condição de maior sombreamento, estas estruturas foram capazes de se desenvolver e formar novos rametes. Assim, mesmo sob sombreamento, esta planta não apenas sobreviveu, mas se mostrou capaz de aumentar sua população.

Entretanto, os resultados deste trabalho mostram que o número de ramificações diminui, ao longo do tempo, quando há menor incidência de luz, uma vez que este fator é capaz de aprimorar a alocação de recursos entre os rametes parentais e os novos rametes em plantas clonais (Li & Wang, 2011). Com a diminuição das ramificações, a arquitetura de *S. auriculata* pode ser prejudicada, comprometendo a expansão horizontal da planta. As ramificações secundárias podem compensar a perda do ramo principal do clone em caso de dano, morte ou senescência do ramete principal (Julien & Bourne, 1986). Mitchell & Tur (1975) mostraram que sob baixa concentração de nitrogênio, *S. molesta* não apresentou ramos laterais. A formação de ramificações é um exemplo de reiteração adaptativa em resposta a condições ambientais excepcionalmente favoráveis (Bell & Tomlinson, 1980), como no caso de plena luz. Em macrófitas submersas, como *Myriophyllum spicatum* (Haloragaceae), há um investimento em crescimento vertical sob condições de sombreamento, e menos ramificações são formadas (Strand & Weisner, 2001). Para *S. auriculata*, a redução das ramificações, com o passar do tempo, podem comprometer sua

expansão horizontal e a integração entre os rametes, o que é desfavorável para o seu crescimento.

O sombreamento pode controlar populações de espécies aquáticas tidas como invasoras. Schooler (2008) mostrou que técnicas de sombreamento são capazes de controlar a espécie *Cabomba caroliniana* (Cabombaceae), desde que seja com sombra total. Há estudos que buscam formas de controle para o crescimento de macrófitas submersas utilizando-se de espécies flutuantes para o sombreamento (Janes et al., 1996; Scheffer et al., 2003). O sombreamento causado por plantas aquáticas de maior porte, como o gênero *Eichhornia*, pode afetar o vigor de plantas livre-flutuantes (Agami & Reddy, 1990). Nossos resultados mostram que o sombreamento de macrófitas de maior porte sob *S. auriculata* pode prejudicar seu vigor como macrófita flutuante, mas não afetaria o seu crescimento. Além disso, essa técnica pode ser complicada uma vez que a maioria das plantas aquáticas de maior porte apresenta crescimento vigoroso e são também consideradas plantas daninhas. Por isso, mais estudos são necessários para compreender o efeito do sombreamento em longo prazo e quais as consequências futuras para a colonização dos rametes de *S. auriculata* em corpos d'água sob esta condição.

## 5 Referências bibliográficas

- Agami, M.; Reddy, K.R., 1990. Competition for space between *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Pistia stratiotes* L. cultured in nutrient-enriched water. *Aquat. Bot.* 38, 195-208.
- Alpert, P., 1999. Effects of clonal integration on plant plasticity in *Fragaria chiloensis*. *Plant. Ecol.* 141, 99-106.
- Barko, J.W.; Adams, M.S.; Clesceri, N.L., 1986. Environmental factors and their consideration in the management of submersed aquatic vegetation: a review. *J. Aquat. Plant Manage.* 24, 1-10.
- Bell, A.D.; Tomlinson, P.B., 1980. Adaptive architecture in rhizomatous plants. *Bot. J. Linn. Soc.* 80, 125-160.
- Bloom, A.J.; Chapin, F.S.; Mooney, H. A., 1985. Resource limitation in plant-an economic analogy. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16, 363-392.
- Boustany, R.G.; Michot, T.C.; Moss, R.F., 2010. Effects of salinity and light on biomass and growth of *Vallisneria americana* from Lower St. Johns River, FL, USA. *Wetl. Ecol. Manag.* 18, 203-217.
- Camargo, A.F.M.; Henry-Silva, G.G.; Pezzato, M.M., 2003. Crescimento e produção primária de macrófitas aquáticas em zonas litorâneas. In: HENRY, R. (Ed.). *Ecótonos nas Interfaces dos Ecossistemas Aquáticos*. Fundibio/Rima, São Carlos, 213-232.

- Coelho, F.F.; Lopes, F.S.; Sperber, C.F., 2000. Density-dependent morphological plasticity in *Salvinia auriculata* Aublet. *Aquat. Bot.* 66, 273–280.
- Coelho, F.F.; Lopes, F.S. Sperber, C.F., 2005. Persistence strategy of *Salvinia auriculata* Aublet in temporary ponds of Southern Pantanal, Brazil. *Aquat. Bot.* 81, 343-352.
- De La Sota, E.R., 1962. Contributio al conocimiento de las Salviniaceae neotropicales. II. *Salvinia auriculata* Aublet. *Darwiniana* 12, 499-513.
- Duarte, C.M.; Kalff, J., 1987. Latitudinal influences on the depths of maximum colonization and maximum biomass of submerged angiosperms in lakes. *Can. J. Fish. Aquati. Sci.* 44, 1759-1764.
- Fu, H.; Yuan, G.; Cao, T.; Ni, L.; Zhang, M.; Wang, S., 2012. An alternative mechanism for shade adaptation: implication of allometric responses of three submersed macrophytes to water depth. *Ecol. Res.*, 27, 1087-1094.
- Garbey, C.; Thiébaud, G.; Muller, S., 2006. An experimental study of the plastic responses of *Ranunculus peltatus* Schrank to four environmental parameters. *Hydrobiologia*, 570, 41-46.
- Gopal, B.; Goel, U., 1993. Competition and allelopathy in aquatic plant communities. *Bot. Rev.* 59, 155-210.
- Grime, J.P., 2001. *Plant strategies vegetation processes, and ecosystem properties*. Wiley, New York.



- Harper, J.L., 1977. Population biology of plants. Academic Press, London, 892.
- Hoagland, D.R.; Arnon, D.I., 1950. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley, Calif. Agric. Exp. Station, 32p.
- Hoffman, G.L.; Stockey, R.A., 1994. Sporophytes, megaspores, and massules of *Azolla stanleyi* from the Paleocene Joffre Bridge locality, Alberta. Can. J. Botany 72, 301–308.
- Janes, R.A.; Eaton, J.W.; Hardwick, K., 1996. The effects of floating mats of *Azolla filiculoides* Lam. and *Lemna minuta* Kunth on the growth of submerged macrophytes. Hydrobiologia, 340, 23-26.
- Jo, I.S.; Han, D.U.; Cho, Y.J.; Lee, E.J., 2010. Effects of light, temperature, and water depth on growth of a rare aquatic plant, *Ranunculus kadzusesensis*. J. Plant Biol. 53, 88-93.
- Julien, M.H.; Bourne, A.S., 1986. Compensatory branching and changes in nitrogen content in the aquatic weed *Salvinia molesta* in response to disbudding. Oecologia 70, 250-257.
- Julien, M.H.; Center, T.D.; Tipping, P.W., 2002. Floating Fern (*Salvinia*). In Biological control of invasive plants in the eastern United States. USDA Forest Service, Publication, 4, 17-32.
- Li, W.; Wang, J., 2011. Influence of light and nitrate assimilation on the growth strategy in clonal weed *Eichhornia crassipes*. Aquat. Ecol. 45, 1-9.
- Lötscher, M., 2006. Resource allocation in clonal plants. Prog. Bot. 67, 537-571.

- Mitchell, D.S.; Tur, N.M., 1975. The rate of growth of *Salvinia molesta* (*S. auriculata* Aublet) in laboratory and natural conditions. *J. Appl. Ecol.* 12, 213-225.
- Olguín, E.J.; Hernández, E.; Ramos, I., 2002. The effect of both different light conditions and the pH value on the capacity of *Salvinia minima* Baker for removing cadmium, lead and chromium. *Acta Biotechnol.* 22, 121-131.
- Rani, V.U.; Bhambie, S., 1983. A study on the growth of *Salvinia molesta* Mitchell in relation to light and temperature. *Aquat. Bot.* 17, 119-124.
- Room, P.M., 1983. 'Falling apart' as a life style: the rhizome architecture and population growth of *Salvinia molesta*. *J. Ecol.* 71, 349-365.
- Room, P.M., 1990. Ecology of a simple plant-herbivore system: biological control of *Salvinia*. *Trends Ecol. Evol.* 5, 74-79.
- Room, P.M., 1988. Effects of temperature, nutrients and a beetle on branch architecture of the floating weed *Salvinia molesta* and simulations of biological control. *J. Ecol.* 76, 826-848.
- Scheffer, M.; Szabó, S.; Gragnani, A.; van Nes, E.H.; Rinaldi, S.; Kautsky, N.; Norberg, J.; Roijackers, R.M.M.; Franken, R.J.M., 2003. Floating plant dominance as a stable state. *PNAS*, 100 (7), 4040-4045.
- Schlichting, C.D., 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants *Annu. Rev. Ecol. Sys.* 17, 667-693.

- Schooler, S.S., 2008. Shade as a management tool for the invasive submerged macrophyte, *Cabomba caroliniana*. *J. Aquat. Plant Manage.* 46, 168-171.
- Sculthorpe, C.D., 1967. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. London: Edward Arnold, 610 p.
- Slade, A.J.; Hutchings, M.J., 1987. The effects of light intensity on foraging in the clonal herb *Glechoma hederacea*. *J. Ecol.* 75, 639-650.
- Stearns, S.C., 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford.
- Strand, J.A.; Weisner, S.E.B., 2001. Morphological plastic responses to water depth and wave exposure in an aquatic plant (*Myriophyllum spicatum*). *J. Ecol.* 89, 166-175.
- Sultan, S.E., 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life-history. *Trends Plant Sci.* 5, 537-542.
- Tilman, D., 1988. *Plant strategies and the dynamics and structure of plant communities*. Princeton University Press.
- Wang, N.; Yu, F.H.; Li, P.X.; He, W.M.; Liu, J.; Yu, G.L.; Song, Y.B.; Dong, M., 2009. Clonal integration supports the expansion from terrestrial to aquatic environments in the amphibious stoloniferous herb *Alternanthera philoxeroides*. *Plant Biol.*, 11, 483-489.

- Wang, N.; Y.U., F.-H.; Li, P.-X.; He, W.-M.; Liu, F.-H.; Liu, J.; Dong, M., 2008. Clonal integration affects growth, photosynthetic efficiency and biomass allocation, but not the competitive ability, of the alien invasive *Alternanthera philoxeroides* under severe stress. *Ann. Bot.-London* 101, 671–678.
- Weiner, J., 2004. Allocation, plasticity and allometry in plants. *Perspect. Plant Ecol.* 6/4, 207–215.
- Wersal, R.M.; Madsen, J.D., 2013. Influences of light intensity variations on growth characteristics of *Myriophyllum aquaticum*. *J. Freshwater Ecol.* 28, 147-164.
- Worley, A.C.; Harder, L.D., 1996. Size-dependent resource allocation and costs of reproduction in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae). *J. Ecol.* 84, 195-206.
- Yuan, L.Y.; Li, W.; Liu, G.H.A.; Deng, G., 2012. Effects of different shaded conditions and water depths on the growth and reproductive strategy of *Vallisneria spinulosa*. *Pak. J. Bot.* 44, 911-918.
- Zhao, C.F.; Li, H.L.; Luo, F.L., 2013. Effects of light heterogeneity on growth of a submerged clonal macrophyte. *Plant Spec. Biol.* 28, 156-164.
- Zutshi, D.P.; Vass, K.K., 1971. Ecology and production of *Salvinia natans* Hoffm. in Kashmir. *Hydrobiologia* 38, 303-320.

**CAPÍTULO 2: Efeitos do sombreamento na anatomia foliar de *Salvinia auriculata* (Salviniaceae)**

Versão Preliminar: *Brazilian Journal of Botany*

THE SHADING EFFECT ON LEAF ANATOMY OF *Salvinia auriculata*  
(Salviniaceae)

**Jessica Cristina Carvalho<sup>1</sup>, \*, Flávia de Freitas Coelho<sup>2</sup>, Fabrício José Pereira<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Departamento de Biologia, Setor de Ecologia Aplicada, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 37200-000, Brazil.*

<sup>2</sup> *Departamento de Biologia, Setor de Botânica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 37200-000, Brazil. flaviafcoelho@gmail.com*

<sup>3</sup> *Departamento de Biologia, Setor de Botânica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 37200-000, Brazil. fjprock@gmail.com*

\* Corresponding author: Tel.: +55 35 3829-1924. E-mail: jcc-bio@hotmail.com

**Brazilian Journal of Botany**

## RESUMO

Algumas plantas expostas a estresses ambientais apresentam respostas plásticas em seu desenvolvimento. Modificações anatômicas observadas em plantas são resultados de adaptações fisiológicas quando submetidas a diferentes condições ambientais. Um dos fatores que limita o desenvolvimento de macrófitas aquáticas é a disponibilidade de luz, capaz de interferir na taxa fotossintética. *Salvinia auriculata* é uma samambaia aquática, considerada como daninha, e que pode formar “tapetes” na superfície da água devido ao seu rápido crescimento. Dessa maneira, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do sombreamento na anatomia foliar de *S. auriculata*, e examinar quais estruturas sofrem modificações frente a essa condição de estresse. Rametes de *S. auriculata* foram submetidos a três tratamentos, em casa de vegetação, contendo diferentes níveis de sombreamento, utilizando-se sombrites: 0% (controle), 35% e 70% de sombreamento. Tecidos ligados à fotossíntese como parênquima clorofiliano e epiderme, e a organela cloroplastídeo foram avaliados através do teste de análise de variância (ANOVA). Os resultados mostram que o sombreamento diminuiu a espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso, e também a espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial. Porém, o arranjo dos tecidos não sofreu modificação, mostrando que *S. auriculata* mantém a arquitetura foliar mesmo em condição de pouca luz. Além disso, o teor de clorofila aumentou com maior nível de sombreamento, o que pode ser explicado pelo aumento no diâmetro dos cloroplastídeos. Isso mostra que *S. auriculata* apresenta plasticidade diante de condições de estresse, como a falta de luz, na tentativa de otimizar a fotossíntese.

**Palavras-chave:** Sombra, Samambaia Aquática, Tecido Foliar, Plasticidade.

### ABSTRACT

Some plants exposed to environmental stresses exhibit plastic responses in its development. Anatomy changes observed in plants are physiologic adaptations results when submitted to different environmental conditions. One of the factors that limit the aquatic macrophytes development is the light availability, which interferes in photosynthesis rate. *Salvinia auriculata* is an aquatic fern considered as weed and that can form “crowded mats” on water surface due to its fast growth. Thus, the aim of this study was to evaluate the shading effect on the leaf anatomy of *S. auriculata*, and examine which structures change in this stress condition. *S. auriculata* ramets were subjected to three treatments, in a greenhouse, with different shading levels, using shading nets: 0% (control), 35% and 70% of shading. Tissues connected to photosynthesis as parenchyma, epidermis and organelles as chloroplasts were evaluated using the analysis of variance (ANOVA). The results show that the shading condition decreased the thickness of palisade and spongy parenchyma, and the thickness of adaxial and abaxial epidermis. However, the tissues arrangement did not change, exhibiting that *S. auriculata* sustain the leaf architecture even in low light condition. Furthermore, the chlorophyll content increased with higher level of shading that can be explained by the chloroplasts diameter increase. This shows that *S. auriculata* exhibit plasticity in stress conditions, as light lack, in an attempt to optimize the photosynthesis process. Understanding the *S. auriculata* anatomy and plasticity in adverse conditions can help to formulate ways of management and control to reduce the damages in aquatic environments.

**Keywords:** Shading, Aquatic Fern, Leaf Tissue, Plasticity.



## 1 Introdução

Muitas espécies de plantas quando expostas a estresses ambientais apresentam respostas plásticas em seu desenvolvimento, bem como em seus aspectos morfológicos e fisiológicos (Bloom 1985). A plasticidade é a habilidade do organismo de modificar sua fisiologia ou morfologia em resposta à variação das condições ambientais (Schichting 1986). Modificações anatômicas observadas em plantas são resultados de adaptações fisiológicas quando submetidas a diferentes condições ambientais (Hanba et al. 2002).

Um dos fatores ambientais de extrema importância para a planta é a disponibilidade de luz, indispensável para a realização de fotossíntese e para o seu desenvolvimento (Barko et al. 1986), capaz de modificar sua morfologia e anatomia. Folhas de árvores que crescem em ambiente de sombra apresentam mudanças nas características fotossintéticas e organização de células do mesofilo quando comparadas com folhas que crescem em um ambiente com maior radiação solar (Schluter et al. 2003).

Os tecidos que estão envolvidos na captação de luz e fotossíntese são os que sofrem alterações pelo sombreamento. Normalmente, folhas a pleno sol são mais espessas e têm maior capacidade fotossintética, devido ao aumento na quantidade de enzimas e cloroplastídeos, do que folhas de sombra (Larcher 2000). Além disso, a difusão de CO<sub>2</sub> no mesofilo depende da estrutura interna do limbo foliar e da organização das células dos parênquimas (Evans e Loreto 2000). No caso de plantas que apresentam tricomas, pode ocorrer um aumento na quantidade dessa estrutura para diminuir o excesso de luz que chega à epiderme, como uma forma de foto-inibição e foto-danos (Kaul 1976).

*Salvinia auriculata* é uma samambaia aquática que cresce a pleno sol, comum em regiões tropicais. Conhecida popularmente como “orelha-de-onça”, é utilizada em lagos, represas e até aquários para ornamentação e abrigo para

peixes (Lorenzi 2000). Seu tamanho é pequeno, porém, em condições favoráveis, pode formar densos “tapetes” na superfície da água e se espalhar a uma taxa impressionante de 400 km<sup>2</sup> por ano (Julien et al. 2002). Esse fenômeno acontece pela formação de clones através da reprodução assexuada, permitindo uma rápida expansão da planta na superfície da água (Coelho et al. 2005).

Em uma tentativa de controle e manejo desta e de outras espécies de macrófitas que cobrem a superfície da água, muitos estudos têm sido realizados para observar fatores bióticos e abióticos que podem limitar o crescimento (Camargo et al. 2003; Lacoul e Freedman 2006; Franklin et al. 2008). Fatores como densidade de plantas, incidência de luz e autossombreamento podem induzir respostas morfológicas e fisiológicas nessas plantas e serem decisivos para o seu desenvolvimento (Duarte e Kalff 1987).

Em relação à disponibilidade de luz, macrófitas invasoras têm sua eficiência e estratégia associadas à adaptação em diferentes condições de luminosidade (Yuan et al. 2012). Assim, a capacidade de modificar a anatomia das folhas em resposta a diferentes intensidades de luz é um atributo comum de espécies que apresentam grande potencial de aclimação e plasticidade (Bjorkman 1981). Além disso, o conhecimento sobre a anatomia da planta em diferentes condições é um caminho para a compreensão de estratégias evolutivas ligadas ao comportamento invasor.

Dessa maneira, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do sombreamento na anatomia foliar de *S. auriculata*, e examinar quais estruturas sofrem modificações frente a esta condição de estresse. Nós testamos as seguintes hipóteses: (1) Os rametes submetidos ao sombreamento reduzem a espessura do limbo foliar; (2) Ocorre uma desproporção no arranjo dos tecidos do mesofilo devido à falta de luz; (3) O número de cloroplastídeos diminui com menor disponibilidade de luz; (4) A densidade de tricomas da face adaxial diminui com maior sombreamento.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Espécie de estudo

*Salvinia auriculata* Aubl. (Monylophyta: Salviniaceae) é uma samambaia livre-flutuante que pode formar densos tapetes na superfície de lagoas temporárias ou permanentes. A planta consiste em rametes conectados por rizomas (Room 1983). Cada ramete é composto por um nó que sustenta uma folha dividida em dois folíolos verdes flutuantes e uma folha submersa. Os folíolos flutuantes são responsáveis pela fotossíntese. A folha submersa também é dividida em folíolos e é semelhante a uma raiz, responsável pela absorção de água e nutrientes, e pela reprodução assexuada (Sculthorpe 1967). Raízes verdadeiras não são encontradas. Essa estrutura também sustenta órgãos produtores de esporocarpos, que consistem em um “soro” circundado por um indúcio globoso (De la Sota 1962). Os esporocarpos são estruturas resistentes, e sua produção é expressiva durante o período de seca, quando o crescimento clonal é desfavorecido. Nos períodos de cheia, a reprodução assexuada aumenta com a formação de brotos (Coelho et al. 2005). O broto é uma estrutura pequena formada ao final do rizoma, com os folíolos aéreos fechados. Esta estrutura cresce para formar um novo ramete que vai se estender em uma nova ramificação, formando a arquitetura do clone. Brotos laterais se desenvolvem para formar ramificações laterais.

### 2.2 Experimento em Casa de Vegetação

Os rametes foram coletados em uma lagoa sob influência do Rio Grande (21° 11' 15" S; 45° 05' 02" W), próximo ao município de Ribeirão Vermelho - MG.

As plantas foram lavadas em água destilada para retirada de matéria orgânica, partículas de solo e partes mortas. Qualquer estrutura reprodutiva presente nos rametes selecionados (esporocarpos e/ou brotos) foi retirada. Os rametes coletados foram medidos e selecionados quanto à uniformidade de tamanho e aparência de fitossanidade das folhas aéreas e submersas, e levados à casa de vegetação do Departamento de Biologia, Setor de Botânica Estrutural.

O experimento foi conduzido no período de 30 dias (08 de abril a 07 de maio de 2014). Foram utilizados 45 potes plásticos translúcidos, com capacidade de 1L cada, sobre uma bancada de superfície uniforme. Em cada pote foi acondicionado um ramete, sendo todos de mesmo tamanho e aparência. Por cima dos potes, foram utilizados sombrites constituídos por 2 níveis de sombreamento e um controle, totalizando 3 tratamentos com 15 repetições cada (N=45): controle (T0), 35% de sombreamento (T1) e 70% de sombreamento (T2). Os potes continham solução de Hoagland-Arnon (1950) com força iônica de 20% preparada em água destilada, com 8cm de profundidade. A solução foi trocada de 7 em 7 dias, a fim de limpar os potes e evitar a proliferação de algas. Durante o experimento, foram realizadas 5 medições do teor de clorofila dos folíolos aéreos, utilizando-se o SPAD, sendo 15 folíolos aleatórios de cada tratamento por medição.

### ***2.3 Avaliações anatômicas***

Ao final do experimento, foram selecionados aleatoriamente 5 rametes de cada repetição para as avaliações anatômicas. Desses rametes, os folíolos aéreos foram separados e fixados em F.A.A. (Formaldeído 37%, ácido acético glacial P. A. e etanol 70% na proporção de 0,5: 0,5: 9,0), e posteriormente conservadas em etanol 70% (Johansen 2010). Para a montagem das lâminas, as amostras de folíolos já fixadas foram submetidas à série de desidratação etílica

(70%, 90% e 100%), permanecendo por duas horas em cada solução. Após essa etapa, as amostras foram infiltradas em hidroxietil-metacrilato Leica®, seguindo as instruções propostas pelo fabricante para o processo de emblocamento. As secções transversais foram realizadas na região mediana da nervura central com auxílio de micrótomo semiautomático rotativo com a espessura ajustada para 5  $\mu\text{m}$ .

As lâminas foram montadas com 8 cortes transversais dos folíolos selecionados para cada pote. Dos rametes selecionados, foi montada uma lâmina por pote, totalizando 45 lâminas. Todas as lâminas foram coradas com solução de azul de toluidina (0,05%, pH 6,7) por 15 minutos. As secções foram montadas em lâmina e lamínula com bálsamo do Canadá (O'Brien et al. 1964) como meio de lutagem. As lâminas foram fotografadas em câmera acoplada ao microscópio e as análises realizadas em um software de análise de imagens Image Tool versão 3.0 (Uthsca 2002).

Os cortes transversais nos folíolos aéreos foram realizados para analisar, em cada tratamento: 1) espessura do parênquima paliçádico; 2) espessura do parênquima esponjoso; 3) proporção entre a espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso; 4) espessura da epiderme na face adaxial; 5) espessura da epiderme na face abaxial; 6) proporção entre a espessura das epidermes adaxial e abaxial; 7) espessura total do limbo foliar; 8) área das câmaras de aerênquima do parênquima paliçádico; 9) área das câmaras de aerênquima do parênquima esponjoso; 10) número de cloroplastídeos; 11) e diâmetro dos cloroplastídeos.

Para a contagem do número de tricomas da face adaxial da epiderme, foram selecionados aleatoriamente 50 folíolos aéreos de cada tratamento. Os folíolos foram colocados na lupa e fotografados em câmera acoplada, e a contagem realizada em um software de análise de imagens Image Tool versão 3.0 (Uthsca 2002).

## 2.4 Análise de dados

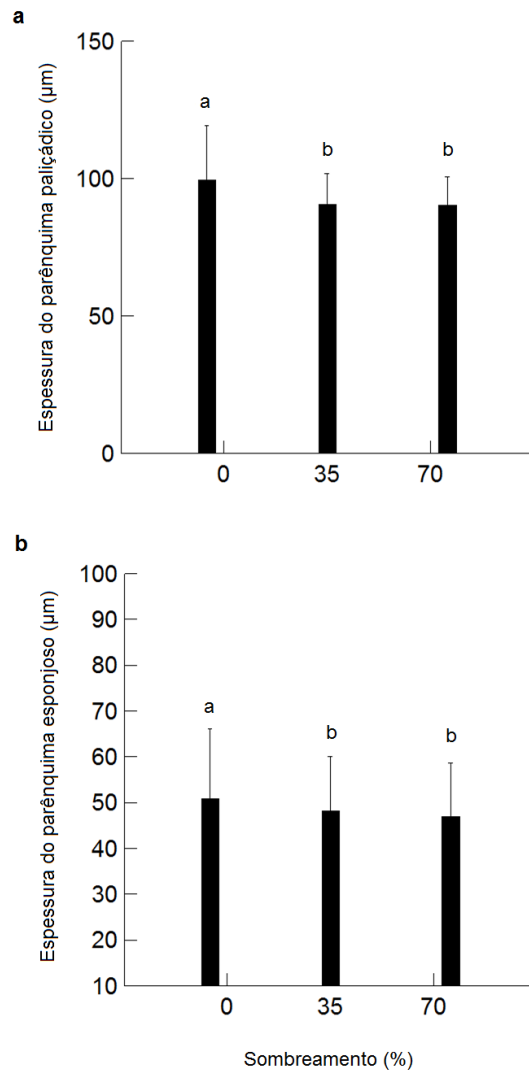
Para verificar o efeito do sombreamento na espessura e na área das estruturas analisadas (parênquima paliçádico, parênquima esponjoso, epiderme adaxial, epiderme abaxial, limbo foliar e cloroplastídeos), foi utilizada análise de variância (one-way ANOVA), onde o sombreamento é a variável preditora categórica (fator) e a espessura e área dos tecidos é a variável resposta.

Para testar a diferença na proporção dos tecidos entre os tratamentos, foi realizado um cálculo onde a espessura do tecido paliçádico foi dividida pela espessura do tecido esponjoso. O mesmo foi feito com a epiderme, dividindo a espessura da face adaxial pela espessura da face abaxial. Para os valores obtidos, foi realizado uma análise de variância (one-way ANOVA) para verificar a diferença entre os tratamentos.

Para testar a diferença do teor de clorofila através do SPAD e a densidade de tricomas nos três tratamentos, também foi realizada análise de variância (one-way ANOVA). Para verificar a diferença das médias par a par, foi realizado teste a posteriori Scott-Knott.

## 3 Resultados

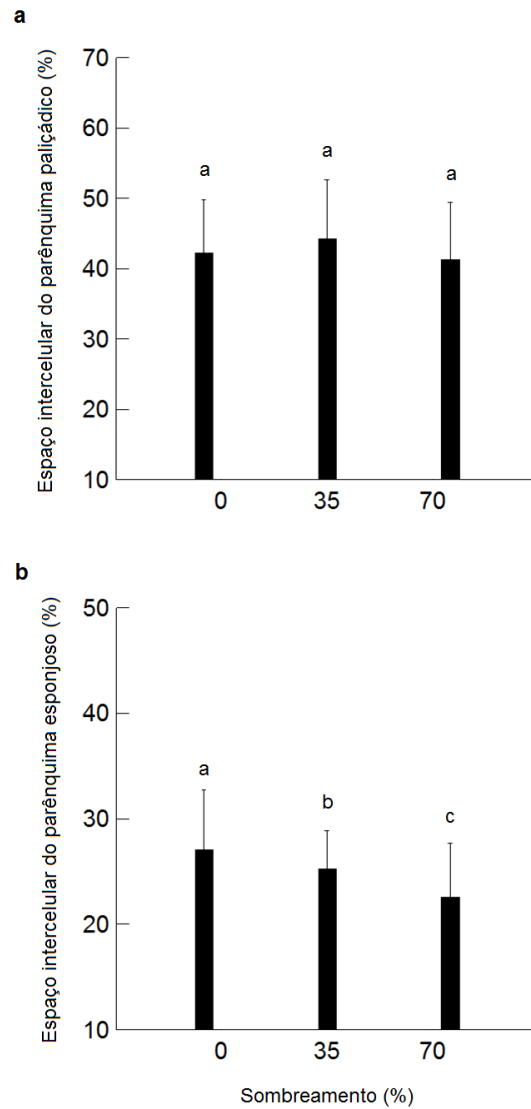
Os diferentes níveis de sombreamento afetaram a anatomia dos folíolos aéreos de *S. auriculata*, mostrando a plasticidade da espécie frente a uma condição de estresse. É possível observar a diminuição da espessura do parênquima paliçádico ( $F= 18,309$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 5a) e do parênquima esponjoso ( $F=3,64$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 5b) em folíolos que foram submetidos ao sombreamento. Os tratamentos de 35% e 70% apresentaram folíolos com mesma média de espessura, mostrando que o mínimo de sombreamento já é suficiente para modificar a espessura da folha.



**Figura 5** Teste de análise de variância (ANOVA) da espessura: **(a)** do parênquima paliçádico ( $F= 18,309$ ;  $p < 0,05$ ); **(b)** e do parênquima esponjoso ( $F= 3,64$ ;  $p < 0,05$ ), dos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35% e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott.

A área de aerênquima do parênquima paliçádico não apresentou diferença entre os tratamentos ( $F=1,759$ ;  $p>0,05$ ) (FIGURA 6a). Apesar da redução na espessura, a área de câmara do parênquima clorofiliano não sofreu alteração, importante para manter a difusão de  $CO_2$ . A área de câmara do parênquima esponjoso acompanhou a redução da espessura e foi menor nos tratamentos com sombrite ( $F=10,252$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 6b).



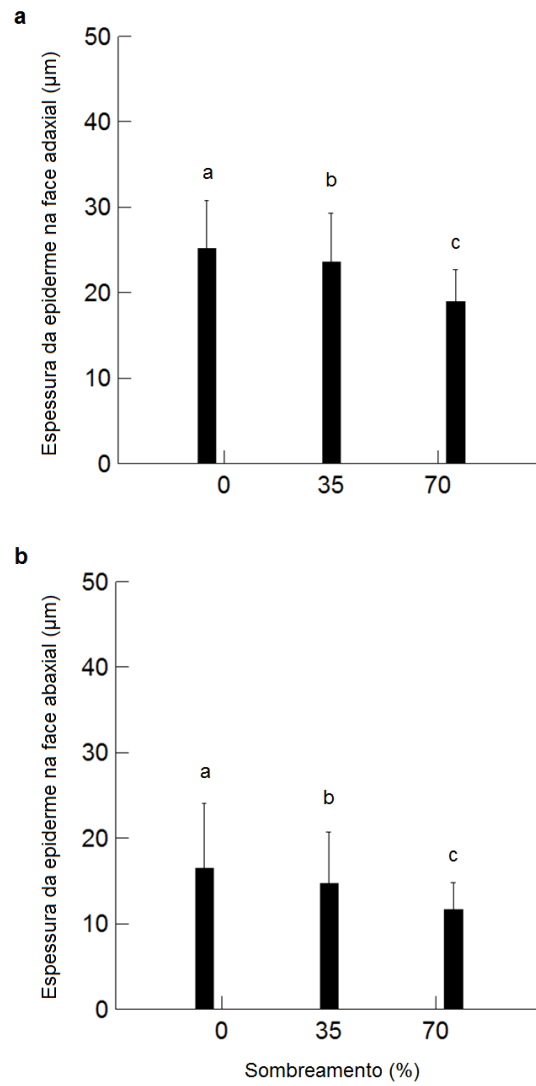


**Figura 6** Teste de análise de variância (ANOVA) da área de aerênquima: **(a)** do parênquima paliçádico ( $F= 1,759$ ;  $p>0,05$ ); **(b)** e do parênquima esponjoso ( $F= 10,252$ ;  $p< 0,05$ ), dos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de

sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott.

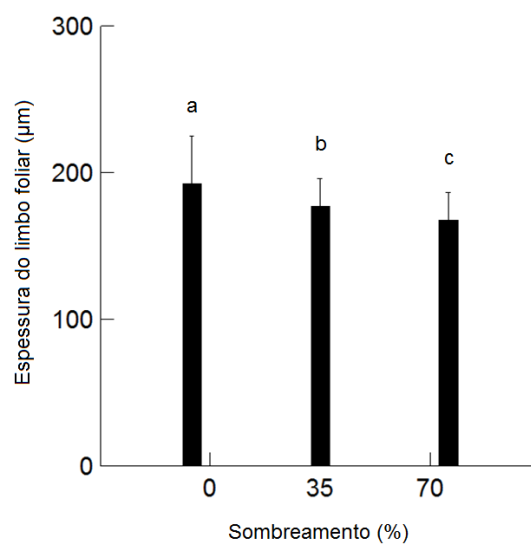
A proporção entre o parênquima paliçádico e o parênquima esponjoso não apresentou diferença entre os tratamentos ( $F=2,54$ ;  $p>0,05$ ) e diminuíram a espessura na mesma proporção.

A espessura da epiderme nas diferentes faces apresentou diferença entre os três tratamentos. A epiderme na face adaxial apresentou uma redução na espessura conforme aumentava o nível de sombreamento ( $F= 55,126$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 7a). A mesma mudança ocorreu para a epiderme na face abaxial ( $F= 22,65$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 7b), onde a espessura diminui ao aumentar o nível de sombreamento.

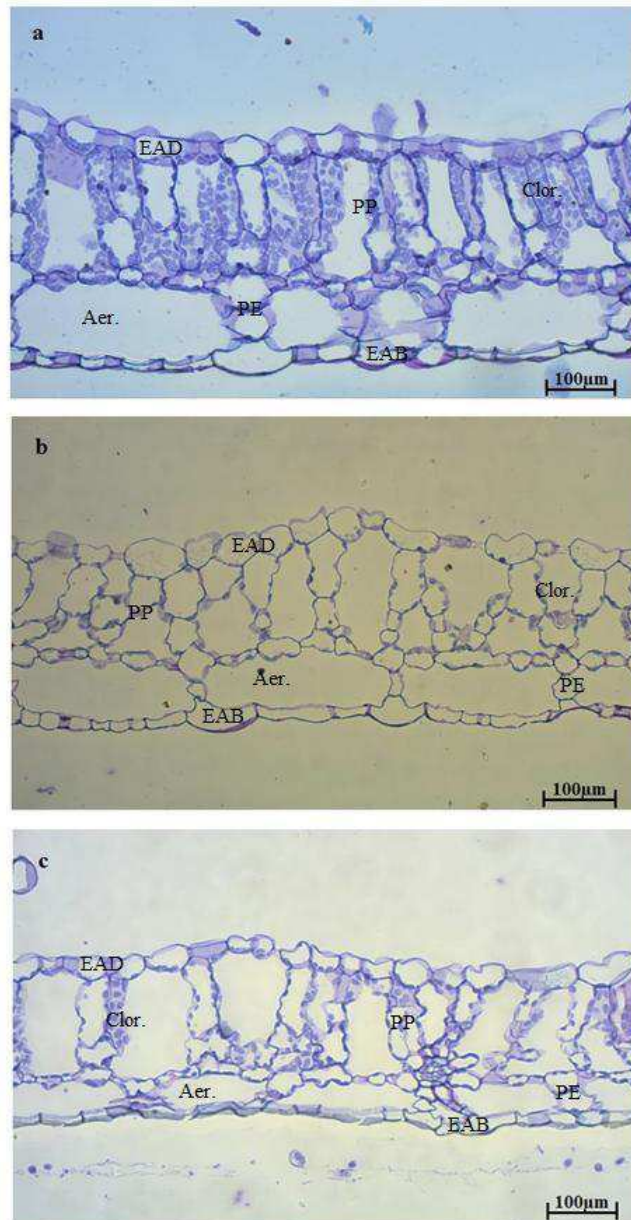


**Figura 7** Teste de análise de variância (ANOVA) da espessura: **(a)** da epiderme adaxial ( $F= 55,126$ ;  $p<0,05$ ); **(b)** e da epiderme abaxial ( $F= 22,65$ ;  $p<0,05$ ), dos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott.

A proporção entre as duas epidermes também não apresentou diferença entre os tratamentos ( $F=1,144$ ;  $p>0,05$ ). Podemos verificar que toda a espessura do limbo foliar sofreu uma redução conforme aumentava o nível de sombreamento ( $F=36,184$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURAS 8 e 9).



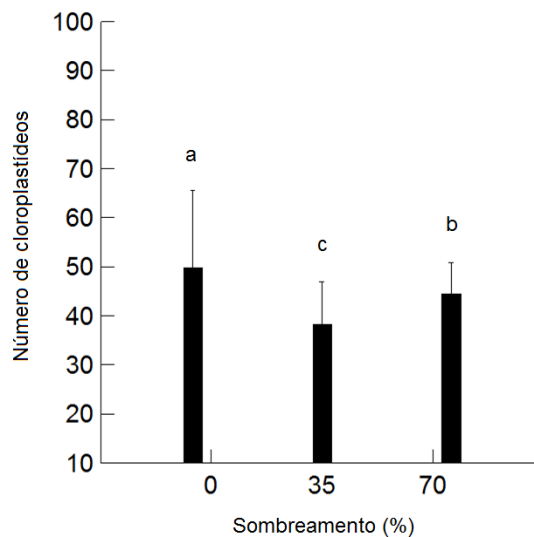
**Figura 8** Teste de análise de variância (ANOVA) da espessura do limbo foliar ( $F= 36,184$ ;  $p<0,05$ ) de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott.



**Figura 9** Secções transversais de folíolos de *S. auriculata* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **a** = 0% de sombreamento (controle); **b** = 35% de sombreamento; **c** = 70% de sombreamento. As estruturas são: EAD (epiderme da face

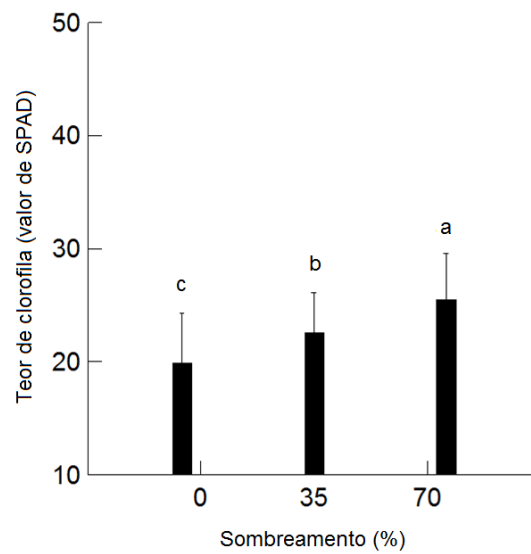
adaxial), EAB (epiderme da face abaxial), PP (parênquima clorofiliano), PE (parênquima esponjoso), Aer. (aerênquima), Clor. (cloroplastídeo).

O número de cloroplastídeos no parênquima clorofiliano foi diferente entre os três tratamentos. O maior número encontrado foi no tratamento controle, com radiação plena de luz. Nos tratamentos com sombreamento tivemos uma redução no número dessas estruturas ( $F=12,809$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 10). Porém, é interessante observar que, mesmo com menor número de cloroplastídeos, o teor de clorofila (SPAD) aumenta conforme aumenta o nível de sombreamento ( $F=36,682$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 11). Além disso, houve um aumento no diâmetro dos cloroplastídeos em maior nível de sombreamento ( $F=37,51$ ;  $p<0,05$ ) (FIGURA 12).

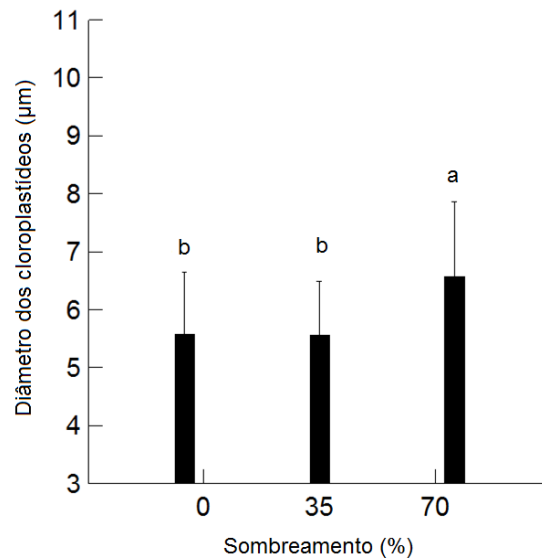


**Figura 10** Teste de análise de variância (ANOVA) do número de cloroplastídeos ( $F=12,809$ ;  $p<0,05$ ) de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de

sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott.



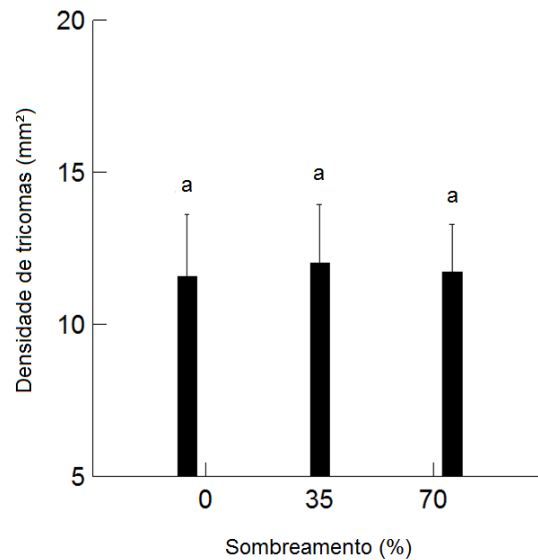
**Figura 11** Teste de análise de variância (ANOVA) do teor de clorofila ( $F=36,682$ ;  $p<0,05$ ) nos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott.



**Figura 12** Teste de análise de variância (ANOVA) do diâmetro dos cloroplastídeos ( $F=37,51$ ;  $p<0,05$ ) nos folíolos aéreos de *S. auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35 e 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott.

A densidade de tricomas ( $\text{mm}^2$ ) não foi diferente entre os tratamentos ( $F=0,756$ ;  $p>0,05$ ) (FIGURAS 13).





**Figura 13** Teste de análise de variância (ANOVA) da densidade de tricomas (mm<sup>2</sup>) ( $F=0,756$ ;  $p>0,05$ ) nos folíolos aéreos de *Salvinia auriculata* entre os três tratamentos de sombreamento (0, 35, 70% de sombreamento). As letras mostram a diferença entre os tratamentos, através do teste Scott-Knott.

#### 4 Discussão

Os resultados mostram que o sombreamento afeta a anatomia foliar de *S. auriculata* e que a planta apresenta plasticidade em condições com limitação de luz. As mudanças estruturais observadas, como redução na espessura dos tecidos e manutenção na arquitetura foliar, buscam otimizar a entrada de radiação solar disponível para a planta, considerada a principal fonte de energia para a fotossíntese (Morais et al. 2004).

Assim como grande parte das plantas de sol, os parênquimas (palicádico e esponjoso) de *S. auriculata* sofreram reduções em condição de sombreamento,

mesmo que parcial. Essa plasticidade estrutural é muito comum em folhas que se desenvolvem em ambientes com pouca luz (Wylie 1949; Medri e Perez 1983; Larcher 2000). Normalmente, folhas expostas a altas intensidades de luz apresentam um aumento na espessura do mesofilo. A falta de luz como fonte de energia prejudica a expansão dos tecidos e mantém a espessura menor quando comparadas às folhas expostas ao sol (Kubínová 1991).

Porém, apesar da redução na espessura, a área de aerênquima do parênquima paliçádico não sofreu alteração entre os tratamentos. A abundância de espaços intercelulares é comum em plantas desenvolvidas sob sombreamento (Voltan et al. 1992; Rôças et al. 1997; Morais et al. 2004). Essa condição mantém a difusão de CO<sub>2</sub> no mesofilo, já que é um processo que depende da estrutura interna do limbo foliar e da organização das células do parênquima clorofiliano (Evans e Loreto 2000). Além disso, a manutenção da área de aerênquima deste tecido é importante para a flutuabilidade da planta, já que se trata de uma macrófita livre-flutuante. Dessa maneira, apesar da redução na área de aerênquima do parênquima esponjoso em condição de pouca luz, a planta permanece estável sobre a superfície da água e não sofre danos na flutuabilidade.

A epiderme também sofreu redução sob condição de maior sombreamento. Normalmente, plantas que são de sombra apresentam a epiderme nas faces adaxial e abaxial mais espessa quando cultivadas em sombra (Voltan et al. 1992). Esta diminuição pode estar relacionada à menor necessidade de fotoproteção, evitando um superaquecimento do citoplasma das células do mesofilo, e ao melhor aproveitamento da entrada de luz no parênquima clorofiliano (Esau 1977). Estas variações estruturais podem estar associadas à regulação da difusão luminosa e gasosa dentro da folha, mais uma vez, possibilitando uma melhor eficiência fotossintética (Esau 1977; Terashima et al. 2006).

Com a redução dos tecidos do parênquima e da epiderme de *S. auriculata* sob sombreamento, o limbo foliar, conseqüentemente, foi menos espesso. Há uma estreita relação entre a espessura dos tecidos, como epiderme e parede celular, e a condutância interna de CO<sub>2</sub> (Evans 1999). Lima Jr. et al. (2006) mostraram que em folhas de *Cupania vernalis* submetidas a níveis mais elevados de sombreamento foram observados menores espessuras de epiderme, favorecendo uma maior condutância interna de CO<sub>2</sub> em suas folhas. A concentração de C na folha é proporcional à espessura do mesofilo (Terashima et al. 2001). Morais et al. (2004) propõem que as modificações encontradas em folhas expostas a diferentes fontes de luz podem também ser atribuídas a diferentes níveis de reguladores de crescimento. A auxina, por exemplo, é encontrada em abundância no mesofilo de folhas expostas ao sol e age na expansão de seus tecidos (Medri e Perez 1983).

Modificações na estrutura interna do limbo foliar constituem aspectos decisivos na capacidade de aclimatação das espécies expostas a condições ambientais adversas (Schluter et al. 2003). Os resultados deste trabalho mostram que a proporção entre os parênquimas paliçádico e esponjoso, e entre epidermes adaxial e abaxial não apresentaram diferença entre os tratamentos. Isso mostra que, apesar da redução na espessura dos tecidos, *S. auriculata* é capaz de manter sua arquitetura foliar e organização dos tecidos mesmo sob pouca luminosidade. Essa condição é importante para que a planta se desenvolva em condições adversas, como a falta de luz, já que a organização celular nos tecidos não é prejudicada.

Em condições de longa exposição à luz, o cloroplastídeo forma e acumula amido que tem suas dimensões variadas de acordo com o período do dia. Este estudo mostra que, sob condição de sombreamento, o número de cloroplastídeos diminuiu. Lichtenthaler et al. (1981) explicam que os grãos de amido tendem a desaparecer no escuro e aumentar na presença de luz, e por isso,

há uma redução no número de cloroplastídeos em condição de sombra. Porém, apesar do menor número de cloroplastídeos, os resultados deste trabalho mostraram que o teor de clorofila (SPAD) aumentou conforme aumentava o nível de sombreamento. Essa condição também foi observada por Adamson et al. (1991), em que as folhas de *Tradescantia albiflora* (Commelinaceae) produzidas sob alta luminosidade apresentaram redução no conteúdo de clorofila quando comparadas às folhas que se desenvolveram sob sombreamento parcial. Esta condição pode ser explicada pelo fato de que cloroplastídeos que se encontram em folhas de sol contêm menos teor de clorofila (Goryshina 1980). Além disso, nosso estudo mostra que houve um aumento do diâmetro dos cloroplastídeos em maior sombreamento, talvez como medida compensatória para o menor número desta organela. Skene (1974) descreve que os grana de cloroplastídeos em folhas sob sombreamento são mais altos do que em folhas expostas ao sol. Além disso, ele também observa que o número de tilacóides é maior em regiões sombreadas da folha. A restrição de luz pode promover modificações na anatomia e estrutura dos cloroplastídeos (Crookston et al. 1975). O tamanho do cloroplastídeo é importante, já que a sua estrutura influencia na concentração e no fluxo de CO<sub>2</sub> pela sua superfície e na difusão para a fase líquida (Terashima et al. 2001). O aumento na área desta estrutura permite um maior número de membranas e aumenta a quantidade de clorofila quando há pouca entrada de radiação solar. Isso mostra, mais uma vez, que *S. auriculata* apresenta plasticidade e uma medida compensatória na tentativa de otimizar a fotossíntese mesmo em condição de pouca luz.

Os rametes de *S. auriculata* não apresentaram diferença na densidade de tricomas entre os níveis de tratamento testados. Uma das funções dos tricomas é diminuir o excesso de luz que chega à epiderme, como uma forma de foto-inibição e foto-danos (Kaul 1976). Porém, no presente estudo é possível observar que os tricomas exercem função de eliminação

do excesso de água dos tecidos (Leme e Scremin-Dias 2014). Isso mostra que os tricomas são essenciais para *S. auriculata* a fim de manter a flutuabilidade da planta e não influenciam a reflexão de luz na epiderme.

Análises de anatomia em plantas podem indicar importantes aplicações ecológicas (Metcalf e Chalk 1979). As estratégias e eficiência de *S. auriculata* como uma espécie daninha podem estar diretamente relacionadas com a sua adaptação sob diferentes intensidades de luz. O presente estudo mostra que *S. auriculata* apresenta plasticidade e que seus tecidos sofrem redução em condição adversa, mas sem prejudicar o crescimento da planta. Além disso, há um aumento no teor de clorofila de rametes sob maior sombreamento, o que pode otimizar a taxa fotossintética. A avaliação quantitativa de características anatômicas é realizada na tentativa de entender a relação entre as características fisiológicas e a estrutura foliar (Abrams et al. 1994), afinal, aspectos que apresentam diferenças na estrutura anatômica mostram que essas diferenças podem se estender ao metabolismo da planta (Coll et al. 1980). Estudos que busquem entender a anatomia de *S. auriculata* sob condições de sombreamento são escassos e são necessários outros mais para acessar não só sua estrutura anatômica, mas também o efeito desta condição adversa em seu metabolismo.

## 5 Referências Bibliográficas

Abrams, MD, Kubiske, ME, Mostoller, SA (1994) Relating wet and dry year ecophysiology to leaf structure in contrasting temperate tree species. *Ecology* 75(1):123-133.

Adamson, HY, Chow, WS, Anderson, JM, Vesk, M, Sutherland, MW (1991) Photosynthetic acclimation of *Tradescantia albiflora* to growth irradiance: morphological, ultrastructural and growth responses. *Physiol Plant* 82 (3): 353-359.

Barko, JW, Adams, MS, Clesceri, NL (1986) Environmental factors and their consideration in the management of submersed aquatic vegetation: a review. *J. Aquat Plant Manage* 24:1-10.

Bjorkman, O (1981) Responses to different quantum flux densities. In: Lange, OL, Nobel, PS, Osmond, CB & Ziegler, H. (eds). *Encyclopedia of Plant Physiology: Physiological Plant Ecology I*. New York, Springer-Verlag 12a. (New series), p.57-10.

Bloom, AJ, Chapin, FS, Mooney, HA (1985) Resource limitation in plant-an economic analogy. *Ann Rev Ecol Syst* 16:363-392.

Camargo, AFM, Henry-Silva, GG, Pezzato, MM (2003) Crescimento e produção primária de macrófitas aquáticas em zonas litorâneas. In: Henry, R. (Ed.). *Ecótonos nas Interfaces dos Ecossistemas Aquáticos*. Fundibio/Rima, São Carlos, p. 213-232.

Coelho, FF, Lopes, FS, Sperber, CF (2005) Persistence strategy of *Salvinia auriculata* Aublet in temporary ponds of Southern Pantanal, Brazil. *Aquat Bot* 81:343-352.

Coll, JB, Rodrigo, GN, García, BS, Tamés, RS (1980) *Fisiología Vegetal*. Pirámide S.A, Madrid.

Crookston, RK, Treharne, KJ, Ludford P, Ozbun, JL (1975) Response of beans to shading. *Crop Scie* 15(6): 412-416.

De la Sota, ER (1962) Contributio al conocimiento de las Salviniaceae neotropicales. II. *Salvinia auriculata* Aublet. *Darwiniana* 12:499-513.

Duarte, CM, Kalff, J (1987) Latitudinal influences on the depths of maximum colonization and maximum biomass of submerged angiosperms in lakes. *Can J Fish Aquatic Sci* 44:1759-1764.

Esau, K (1977) *Anatomy of seed plants*. 2 ed. New York, John Wiley, 550p.

Evans, JR (1999) Leaf anatomy enables more equal access to light and CO<sub>2</sub> between chloroplasts. *New Phytol* 143:93-104.

Evans, J.R.; Loreto, F. Acquisition and diffusion of CO<sub>2</sub> in higher plant leaves (2000) In: Leegood, R. C.; Sharkey, T. D.; von Caemmer. S. (Ed.). *Photosynthesis physiology and metabolism*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 321-351 p.

Franklin, P, Michael, D, Whitehead, P (2008) Flow controls on lowland river macrophytes: A review. *Sci Total Environ* 400:369-378.

Goryshina, TK (1980) Structural and functional features of the leaf assimilatory apparatus in plants of a forest-steppe oakwood. *Acta Oecol* 1:47-54.

Hanba, YT, Kogami, H, Terashima, L (2002) The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant Cell Environ*, 25(8):1021-1030.

Hoagland, DR., Arnon, DI (1950). *The water culture method for growing plants without soil*. Berkeley, Calif. Agric. Exp. Station, 32p.

Johansen, DA (2010) *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill, 523p.

Julien, MH, Center, TD, Tipping, PW (2002) Floating Fern (*Salvinia*). In *Biological control of invasive plants in the eastern United States*. USDA Forest Service, Publication 4:17-32.

Kaul, RB (1976) Anatomical observations on floating leaves. *Aquat Bot* 2:215-234.

Kubínová, L (1991) Stomata and mesophyll characteristics of barley leaf as affected by light: Stereological analysis. *J Experiment Bot* 42 (241):995-1001.

Lacoul, P, Freedman, B (2006) Recent observation of a proliferation of *Ranunculus trichophyllus* Chaix in high-altitude lakes of the Mount Everest region. *Arct Antarct Alp Res* 38:394-398.

Larcher, W (2000) *Ecologia Vegetal*. São Paulo: RiMa. [Tradução de Carlos H. B. A. Prado].

Leme, FM, Scremin-Dias, E (2014) Ecological interpretations of the leaf anatomy of amphibious species of *Aeschynomene* L. (Leguminosae – Papilionoideae). *Braz J Biol* 74:41-51.

Lichtenthaler, HK, Buschmann, C, Döll, M, Fietz, H-J, Bach, T, Kozel, U, Meier, D, Rahmsdorf, U (1981) Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynth Res* 2:115-141.

Lima Jr, EC, Alvarenga, AA, Castro, EM, Vieira, CV, Barbosa, JPRAD (2006) Aspectos Fisionômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *R. Árvore, Viçosa-MG*, 30(1):33-41.

Lorenzi, H (2000) *Plantas Daninhas do Brasil*. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum.

Medri, ME, Perez, EL (1983) Quantificação e uso de caracteres anatômicos e fisiológicos de folhas na determinação da eficiência hídrica em clones de *Hevea*. *Acta Amazon* 13:261-288.

Metcalf, CR, Chalk, L (1979) *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford: Clarendon Press. 2 nd ed. Oxford: Clarendon Press, vol. 1.

Morais, H, Medri, ME, Marur, CJ, Caramori, PH, Ribeiro, AMA, Gomes, JC (2004) Modifications on leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of Pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Braz Arch Biol Techn* 47:863-871.

O'brien, TP, Feder, N, McCully, ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue. *Protoplasma* 59(2):368-373.

Rôças, G, Barros, CF, Scarano, FR (1997) Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rain forest. *Trees* 11(8):469-473.

Room, PM (1983) 'Falling apart' as a life style: the rhizome architecture and population growth of *Salvinia molesta*. *J Ecol* 71:349-365.



Schlichting, C.D., 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annu. Rev. Ecol. Sys.* 17, 667–693.

Schluter, U, Muschak, M, Berger, D (2003) Photosynthetic performance of an *Arabidopsis* mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. *J Experiment Bot* 54(383):867-874.

Sculthorpe, CD (1967) *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. London: Edward Arnold, 610 p.

Skene, DS (1974) Chloroplast structure in mature apple leaves grown under different levels of illumination and their response to changed illumination. *Proc Roy Soc Lond* 186:75-78.

Terashima, I, Hanba, YT, Tazoe, Y, Vyas, P, Yano, S (2006) Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO<sub>2</sub> diffusion. *J Experiment Bot* 57(2):343-354.

Terashima, I, Myyazawa, S-I, Hanba, YT (2001) Why are sun leaves thicker than shade leaves? Consideration based on analyses of CO<sub>2</sub> diffusion in the leaf. *J Plant Res* 114:93-105.

Uthsca image tool: image processing and analyses program: version 3.0. San Antonio: University of Texas, 2002. Disponível em: <<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>>. Acesso em: 16 mar. 2014.

Voltan, RBQ, Fahl, JI, Carelli, MLC (1992) Variação na anatomia foliar de cafeeiros submetidos a diferentes intensidades luminosas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 4(2):99-105.

Wylie, RB (1949) Differences in foliar organization among leaves in four locations in the crown of an isolated tree (*Acer platanoides*). *Iowa Academy of Science Proceedings* 56:189-198.

Yuan, L, Li, W, Liu, GHA, Deng, G (2012) Effects of different shaded conditions and water depths on the growth and reproductive strategy of *Vallisneria spirulosa*. *Pak J Bot* 44:911-918.